Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack) und
aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation
mit EURATOM, München (Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

Die Sudanschwarz B - Färbung in der Knochenmark - Kultur

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Detlef Fiebelkorn

aus Berlin

1972

Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack) und
aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation
mit EURATOM, München (Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

Die Sudanschwarz B - Färbung in der Knochenmark - Kultur

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Detlef Fiebelkorn

aus Berlin

Referent :Professor Dr.I.Boll
Korreferent:Professor Dr.F.Lindlar

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 25.8.1972

Frau Prof. Dr. I. Boll danke ich für die
Überlassung des Themas und die freundliche
Beratung bei der Ausführung der Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Fragestellung	10
III.	Material und Methode	11
IV.	Ergebnisse	
	a) in den Originalpräparaten	32
	b) in den Kulturversuchen	44
	c) Zusammenfassung der Ergebnisse	64
V.	Diskussion	70
VI.	Zusammenfassung	83
VII.	Literaturverzeichnis	84

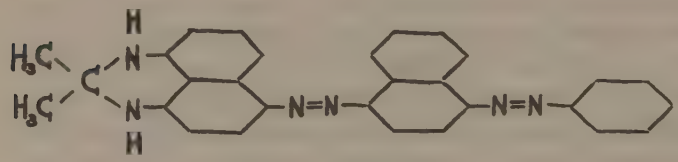
I. Einleitung

Farbstoffe dienen in der Mikroskopie dazu, Strukturen tierischen und pflanzlichen Materials sichtbar zu machen und Einblicke in die Lebensvorgänge zu ermöglichen.

Die Entdeckung der Schwärzung der Fettropfen durch Osmiumtetroxyd durch SCHULZE 1858 war für die Fetthistochemie von großer Bedeutung (nach MERKER 1968). Mit dem von DADDI 1896 eingeführten Diazofarbstoff Sudan 3 (nach MERKER) wurden von CESARIS-DEMEL 1907 und 1909 die ersten Untersuchungen über den Lipidgehalt der Blutzellen durchgeführt. Mit der Technik von CESARIS-DEMEL konnten nur in wenigen Zellen einzelne Lipidgranula nachgewiesen werden. Dieser Befund wird heute so gedeutet, daß phagozytiertes Material oder degeneriertes Zytoplasma zur Darstellung gebracht wurde (nach BACSICH 1935). In den Leukozyten wies SEHRT (1927) mit der von ihm entwickelten Methode die schon von ALBRECHT (zit. nach SEHRT) angenommene lipidartige Zusammensetzung der verschiedenen Granula histochemisch nach. Er nahm an, daß sich diese Lipide aus gesättigten und ungesättigten Phosphatiden, Zerebrosiden und Cholesterinestern zusammensetzen. Alle weißen Blutzellen mit Ausnahme der Lymphozyten enthielten diese Lipide. An die Struktur der Leukozytenlipide war nach Ansicht SEHRTs die Oxydasereaktion gebunden. GOLDMANN (1929) bestätigte die Ergebnisse von SEHRT mit der Einschränkung, daß reife Mastzellen meist keine Lipidgranula aufwiesen. BACSICH (1935) modifizierte die Sudan 3-Methode und beschrieb die Lipidgranulation als einen physiologischen Bestandteil der Granulozyten.

Die Monozyten besaßen nicht immer Lipidgranula, die eosinophilen Granula waren, wie auch SEHRT und GOLDMANN es beschrieben hatten, größer und schwächer gefärbt als die neutrophilen. BACSICH beobachtete auch unreife weiße Zellen, wie sie im Blut bei myeloischen Leukämien vorkommen, und beschrieb sie als dicht mit Granula beladen. Während der Ausreifung nahm die Zahl der Granula ab.

1934 wurde von LISON der Diazofarbstoff Sudanschwarz B in die histochemische Technik eingeführt (nach MERKER 1968). Die Konstitution des Farbstoffes wurde erst in einer Arbeit von BERGMANN 1952 veröffentlicht und ist die eines Dimethylnaphthalinperimidin-4azo (1-naphthyl)-4-azobenzols (nach HARMS 1965).



Der Farbstoff färbt die Lipide einschließlich der mit Sudan 3 und Scharlach R nur schwach gefärbten Fettsubstanzen sehr scharf und vollständig in dunkelbrauem bis schwarzem Ton an. Er besitzt von allen sogenannten Fettfarbstoffen die größte Färbebreite (CLARA 1965). LENNERT und WENZEL empfehlen 1952 das Sudanschwarz B ausdrücklich für die Darstellung der Lipide. Einschränkend ist aber zu sagen, daß Sudanschwarz B kein spezifischer Farbstoff für Lipide ist, denn er färbt auch andere Strukturen wie Eiweiß und saure Mukopolysaccharide an (SCHOTT 1964).

MEIER (1959) hat experimentell nachgewiesen, daß die Färbung der Lipide mit Sudanfarbstoffen auf eine Adsorption zurückzuführen ist. Damit wäre ein Weg aufgezeigt, die Fettunspezifität des Sudanschwarz B zu deuten. Aber die Bedeutung der Sudanschwarz B-Färbung ist in der Histologie nicht zu erschüttern, da außer Fettstoffen keine Substanzen im Gewebe unter physiologischen Bedingungen auftreten, die eine gleichermaßen charakteristische Anfärbung zeigen. Die Frage, ob Sudanophilie wirklich die Anwesenheit von Lipiden beweist (LILLIE und BURTNER 1953), wird heute in positivem Sinne beantwortet (HAYHOE 1953, MAURI 1963).

Zum ersten Mal wurde von SHEEHAN 1939 Sudanschwarz B zur Anfärbung der Leukozyten-Granula verwandt. Die neutrophilen Granula stellten sich tief-schwarz dar. Die eosinophilen erschienen etwas heller und besaßen nur an der Oberfläche Lipide. Myelozyten und reifere Formen zeigten viele, Myeloblasten wenige und manchmal keine positiven Granula. Monozyten zeigten eine feine Granulation. Lymphoblasten und Lymphozyten waren sudanophob.
MC MANUS (1946) bestätigte SHEEHANs Ergebnisse bei verkürzter Färbezeit, doch konnte er keine Granulation in den Monozyten nachweisen. MC MANUS zeigte weiter die Diskrepanz, die zwischen Sudanschwarz B und anderen Fettfarbstoffen besteht, indem er mit Sudan 4 nur in 2% der Leukozyten Granula darstellen konnte (nach LILLIE und BURTNER 1953).
DISCOMBE 1946 (nach LILLIE und BURTNER) kommt zu den gleichen Ergebnissen wie MC MANUS. Die dargestellten Granula sollen Lipide enthalten. Er wies auf die Ähnlichkeit der Verteilung der Sudanschwarz B - mit der Oxydasegranulation hin.
WISLOCKI und DEMPSEY 1946 (nach HAYHOE 1953) fanden in den Megakaryozyten und Plättchen kleine Lipidpartikel.

RALPH (1946) (nach TOBIASCH 1962) stellte mit Sudanschwarz B Lipide in den Neutrophilen, Eosinophilen und Monozyten dar. Thrombozyten und Lymphozyten waren sudannegativ.
BAILLIF und KIMBROUGH (1947) (nach HAYHOE 1953) stimmten mit den Ergebnissen von MC MANUS überein.
1947 gaben SHEEHAN und STOREY eine verbesserte Methode für die Granulafärbung mit Sudanschwarz B an. Auf diese Färbemethode wird noch später hinreichend eingegangen.
RHEINGOLD und WISLOCKI (1948) (nach HAYHOE 1953) beschrieben auch die basophilen Zellen als sudanpositiv, während die Monozyten kein sicheres Färbeergebnis zeigten.
1950 verglichen BLOOM und WISLOCKI die Resultate, die sie mit Sudanschwarz B erreicht hatten, mit denen des sauren Hämatin-Testes nach BAKER (1946). Die erhobenen Befunde korrespondieren weitgehend, doch sollen feinere Strukturen wie z.B. der Golgi-Apparat durch BAKERs Methode klarer dargestellt werden. Die Lipide werden als Phospholipide angesehen.
STORTI und PERUGINI (1949, 1951) stellten für den Ausfall der Sudanschwarz B-Reaktion ein Auswertungssystem auf, dessen Parameter die Anzahl der Granula in der Zelle war. Der Lipidgehalt der Neutrophilen soll in einigen Fällen der chronisch myeloischen Leukämie, der Lymphogranulomatose und bei den meisten Infektionskrankheiten vermindert sein. Beziehungen zwischen dem Lipidgehalt der Granulozyten und dem Hämoglobingehalt, der Leukozytenanzahl, der Temperatur oder der Segmentation der Leukozyten bestehen nicht. Die Ergebnisse von 16 untersuchten Fällen mit akuter Leukämie zeigten keine Übereinstimmung, aber allgemein wurde gefunden, daß der Hämozytoblast, die Erythroblasten und die Erythrozyten, die Lymphozyten, die Plasmazellen, der Megakaryozyt, die Plättchen, die meisten der basophilen Granulozyten und

die reticulären Histiozyten sudanophob waren. Positive Granula wiesen die Monozyten, eosinophilen und neutrophilen Granulozyten auf.
ACKERMAN, KNOUFF und HOSTER gelang 1951 die Darstellung einer diffusen Zytoplasmaanfärbung bei Plasmazellen. Die Reed-Sternberg-Zellen des Morbus Hodgkin enthielten eine größere Anzahl von Lipiden als normale Reticulumzellen.
Durch die Vorbehandlung der Ausstriche mit 25%iger wässriger Essigsäure stellte ACKERMAN 1952 (nach HARMS 1965) Kernlipide, Lipide in Blutplättchen und Erythrozyten dar. Die Anfärbungen sind braun, während die schwarzen Granula in den Neutrophilen und Monozyten durch die Säurebehandlung verschwinden.
1953 verglich HAYHOE mit der Sudanschwarz B-Färbung normales mit pathologischem Knochenmark. Die verschiedenen Formen der Anämie wiesen keinen Unterschied zum normalen Knochenmark auf. In den Myeloblasten der akuten myeloischen Leukämie waren im Gegensatz zu einigen Myeloblasten der chronisch myeloischen Leukämie und dem normalen Befund keine sudanophilen Granula darstellbar. Die Monoblasten-Leukämie zeigt eine leichte Verringerung der Sudanophilie.
Im normalen Knochenmark konnte HAYHOE folgendes zeigen: Der Proerythroblast und der Normoblast weisen perinukleär sudanophile Körnchen auf, die Erythrozyten sind schwach diffus gefärbt. Vom neutrophilen Promyelozyten bis zum neutrophilen Segmentkernigen nimmt die Stärke der Anfärbung zu. Die eosinophilen Granula besitzen nur eine sudanophile Randschale, die Basophilen, die jungen Myeloblasten und die Lymphozyten sind sudanophob. Die Monozyten und die Plasmazellen weisen eine zarte Granulation auf, die Megakaryozyten und die Plättchen färben sich diffus grau bis graubraun an.

LILLIE und BURTNER untersuchten 1953 die Beziehung der Sudanschwarz B positiven Granulation zur Oxydase- und Peroxydasereaktion. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß erhebliche Unterschiede im physikochemischen Verhalten bestehen.
Nach Ansicht von POLOSA und DI SALVO (1953) (nach WOLMAN 1964) ist die Lipidgranulation nicht mit der spezifischen Granulation der Granulozyten identisch, während MAURI (1963) die Meinung vertritt, daß die sudanophile Granulation der neutrophilen Granulation entspricht.
POLOSA, CASOLO und DI SALVO fanden 1953 keine Abhängigkeit zwischen der Anzahl der Granula in den Leukozyten von Diabetes-Patienten und dem Blutcholesterinspiegel (nach WOLMAN 1964).
Die Zahl der sudanophilen Granula in den Leukozyten erschien WACHSTEIN 1955 größer als die mit Giemsa dargestellte Anzahl. Er fand keinen signifikanten Unterschied der Lipidfärbung unter pathologischen Bedingungen, nur bei der chronisch myeloischen Leukämie und bei Infekten war die Anfärbbarkeit geringer.
Der Nachweis der Glanzkörner in Lymphozyten, die eindeutig im Phasenkontrastmikroskop gezeigt werden konnten, gelang RIND 1955 mit der "burnt-Sudan-Black-Methode" von SHEEHAN und WHITWELL, während BEISSEL 1969 mit der von SHEEHAN und STOREY 1947 angegebenen Färbemethode Glanzkörner in folgenden Zellen nachweisen konnte:
Lymphozyten, Plasmazellen, Myeloblasten, Promyelozyten, Myelozyten, Stab- und Segmentkernige, Monozyten, Proerythroblasten, basophile- und polychromatische Erythroblasten und Megakaryozyten.

TOBIASCH überprüfte 1962 die in der Literatur angegebenen Sudanschwarz B-Färbeergebnisse und kam zu einer weitgehenden Übereinstimmung.
MAURI (1963) setzte sich kritisch mit der Lipidanwesenheit in Blut- und Knochenmarkzellen auseinander. Er beschrieb weiterhin das histochemische Verhalten bei einzelnen Lipidspeicherkrankheiten. Die Histiozyten beim Morbus Gaucher und bei der Nieman-Pick'schen Erkrankung färbten sich, wie auch KAHN 1969 es beschrieb, grau an. Eine ebenfalls graue Anfärbung zeigten die pathologischen eosinophilen Granulozyten und die azurophilen Einlagerungen bei dem Chediak-Steinbrink Syndrom.
Die azurophilen Granula, welche bei der Alder'schen Anomalie auftreten, färben sich nach ASTALDI und STROSSELLI (1963) sudanophil an.
LEDER (1967) bewies u.a. mit Hilfe der Sudanschwarz B-Färbung die Abstammung des Monozyten aus dem myeloischen System, indem er die sudanophile Granulation als wesentliches Kriterium für die myeloische Reihe ansieht. Sudanschwarz B wurde auch mit zu der Differenzierung leukämischer Zellen herangezogen (HERTL 1959, 1966, HAYHOE 1964, MÜLLER 1967, KAHN 1968 u.v.a.).
Die verschiedenen Einteilungen bedürfen noch weiterer Diskussion und sollen in diesem Zusammenhang nicht näher erläutert werden. Das zytochemische Verhalten von kultivierten Knochenmarkzellen, u.a. die mit Sudanschwarz B angefärbten Lipide, wurde von HERTL und THOMAS 1959 veröffentlicht. Nach 72 Stunden waren in allen Leukozyten keine Lipide mehr nachweisbar, und Makroblasten, Normoblasten und Erythrozyten zeigten eine zunehmende diffuse Einlagerung.

Zusammenfassung der in der Literatur mit Sudanschwarz B erzielten Ergebnisse an Blut- und Knochenmarkzellen

1. Der normale Blut- und Knochenmarkzellbefund

Der Myeloblast ist in der Regel sudanophob (18, 60), in einzelnen Zellen, welche in der Literatur als "späte" oder "reifere" Myeloblasten bezeichnet werden, sind feine sudanophile Granula beobachtet worden (36, 54, 57, 58). Für HERTL 1959 ist der Lipidgehalt ungewiß. Nur BLOOM und WISLOCKI(1950)und WACHSTEIN(1955)finden regelmäßig kleine sudanophile Einschlüsse.
Die Neutrophilen sind die an Lipiden reichsten Zellen der hämatopoetischen Systeme (37). Vom Promyelozyten ab geben sie mit zunehmendem Reifungsgrad eine stärkere Anfärbbarkeit (18, 21, 37, 62).
Die Eosinophilen besitzen positive Granula, welche größer sind als die der Neutrophilen. Nach den meisten Färbetechniken weisen die Granula eine gefärbte Randschale mit einem sudanophoben "Hof" auf. Die unterschiedlichen Angaben, die über die Anfärbbarkeit der Basophilen gemacht werden, gehen wahrscheinlich auf die Schwierigkeit der Differenzierung zurück. Für BAILLIF und KIMBROUGH, STORTI und PERUGINI 1949, HAYHOE(1953)sind die Basophilen sudanophob, während WACHSTEIN, TOBIASCH auch viele Zellen mit sudanophiler Granulation beobachtet haben. WISLOCKI und Mitarbeiter(1946, 1948 und 1950),BAKALOS und FRAGISKOS geben alle Basophilen als sudanophil an.
Die Ergebnisse, die bei den Monozyten erzielt worden sind, sind ebenfalls nicht einheitlich. Für viele Autoren zeigen die Monozyten eine feine "nebelartige" Granulation (5, 8, 18, 34, 57). Die Anfärbung soll mit der Ausreifung schwächer werden (5, 34). Wenige vereinzelt liegende Granula werden von SHEEHAN, WISLOCKI und DEMPSEY, RALPH, RHEINGOLD und WISLOCKI, WACHSTEIN, HERTL 1959 beschrieben.

MC MANUS und BAILLIF und KIMBROUGH sehen die Monozyten als sudanophob an.
Die Erythroblasten sind mit Sudanschwarz B nicht anfärbbar (5, 21, 57, 60). BLOOM und WISLOCKI, HAYHOE 1953, MAURI können im perinukleären oder juxtanukleären Hof der Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten kleine sudanophile Körnchen darstellen.
Die Erythrozyten zeigen nach den Techniken von HAYHOE 1953, HERTL 1959 und MAURI eine leichte diffus-graue Anfärbung, während die anderen Autoren die Erythrozyten als negativ beschreiben.
Bei den lymphatischen Zellen geben alle Autoren mit Ausnahme von UNDRITZ(1952)und HERTL(1960)eine negative Lipidreaktion an.
Im Zytoplasma des Megakaryozyten und in den Thrombozyten können DEMPSEY und WISLOCKI, HAYHOE(1953)und MAURI Lipide nachweisen, während die anderen Autoren keine Sudanophilie finden können.
Die Plasmazellen werden von STORTI und PERUGINI 1949, LENNERT(1961)und TOBIASCH als sudannegativ angesehen. MC MANUS und WACHSTEIN beobachteten in einigen Zellen positive Granula. ACKERMAN, KNOUFF und HOSTER, HAYHOE 1953, LAMBERS(1962)und MAURI stellten in allen Plasmazellen Lipide als schwach positive Körnchen dar.
Die Retikulumzellen besitzen, wenn auch nicht regelmäßig, zahlreiche kleine Granula (8, 30, 57).

2. Der Einfluß von Krankheiten auf die Sudanophilie der Blut- und Knochenmarkzellen

Eine Verminderung der Lipidfärbung soll bei Infekten eintreten (37, 58, 62), während LAMBERS(1960)bei entzündlichen Erkrankungen keinen sicheren Unterschied erarbeiten konnte.
Bei der chronisch-myeloischen Leukämie zeigen die Neutrophilen eine gegenüber der Norm verringerte Anfärbbarkeit, einzelne sudanophobe Zellen kommen vor.

Die Eosinophilen sind in ihrem Färbeverhalten nicht beeinflußt (32,42,58,62). RASKOVIC (1961) sieht dagegen eine Vermehrung der sudanophilen Granula.
Bei der Basophilen-Leukämie sehen RASKOVIC und MAURI eine Vermehrung der Lipidfärbung. Der Prozentsatz der lipidhaltigen Blutmastleukozyten erreicht das 3-4fache der Norm. ASTALDI und STROSSELLI bestätigen diesen Befund.

Keine Veränderung der Sudanophilie werden gesehen bei: Anämien, akuten myeloischen Leukämien, Panmyelopathien, Agranulozytosen und bei diabetogenen Stoffwechsellagen.

II. Fragestellung

Um festzustellen, ob sich der Lipidgehalt der Knochenmarkzellen in der Knochenmark-Kultur ändert, wurde ein System ausgearbeitet, das halbquantitative Aussagen in Sudanschwarz B-Präparaten erlaubt. Das Verhalten des Lipidgehaltes der verschiedenen oben angegebenen Zellarten in vitro wurde in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit dargestellt und bei verschiedenen Krankheiten untersucht. Die Ergebnisse wurden mit den bekannten histo- und biochemischen Resultaten verglichen. Weiterhin wurde versucht, das Vorkommen von Glanzkörnern in den verschiedenen untersuchten Zellen prozentual anzugeben.

III. Material und Methode

a) Herstellung der Präparate

Zur Untersuchung kommt durch Punktion gewonnenes Sternalmark. Das Material wird in 0,3 mg%iger Hank-Heparin-Lösung aufgefangen. Ein Teil der aspirierten Markbröckchen wird auf Objektträgern ausgestrichen, getrocknet und fixiert. Der andere Teil wird nach der von BOLL (1966) abgewandelten Carrel'schen Koagulumkulturtechnik im Hohlschliffobjektträger kultiviert.

Das Nährmedium enthält folgende Anteile:

50 % Nativ-Humanplasma
40 % Hanks-Lösung (Difco Labratories, Detroit USA)
10 % Corhormon (dreifach konzentriert, Chemiewerk Homburg)

Die Inkubation erfolgt im Brutschrank bei 37 Grad. Nach 24, 48 und 72 Stunden werden Zellausstriche angefertigt. Diese werden getrocknet, fixiert und mit dem Originalausstrich zusammen gefärbt.

In einem Versuch werden nach 48, 72, 96 und 120 Stunden Zellausstriche angefertigt.

b) Färbetechnik

Es wird die von SHEEHAN und STOREY 1947 angegebene Sudanschwarz B-Methode verwendet.

Die luftgetrockneten Präparate werden nach Formol-Dampf-Fixierung 30 Minuten gefärbt. Danach 10 Minuten in 70 %igem Alkohol gewaschen und getrocknet. Ein Teil der Präparate wird mit Löfflers Methylenblau gegengefärbt.

Zur Fixierung

Die 20 Minuten luftgetrockneten Präparate werden in ein geschlossenes Gefäß, dessen Boden mit 40 %-igem Formaldehyd bedeckt ist, für 10 Minuten eingestellt.
Für die Lipidfärbung ist eine Alkoholfixierung, wie sie SHEEHAN 1939 angegeben hat, nicht sinnvoll, da die Lipide durch den Alkohol herausgelöst werden können. Ein Vorteil der Formolfixierung besteht darin, daß eventuell instabile Lipid-Komplexe gefestigt werden.

Zur Farblösung

Die Farblösung wird vor jeder Färbung neu zubereitet. Sie besteht aus 60 Anteilen Sudanlösung und 40 Anteilen Pufferphenollösung und wird vor dem Gebrauch filtriert.
Die Sudanlösung wird hergestellt durch das Lösen von 0,3 g Sudanschwarz B (Firma Merck, siehe 1. Anmerkung Seite 13) in 100 ml absolutem Alkohol. Diese Lösung muß gesättigt sein. (Es wurde hier nicht der von HERMANSKY 1965 vorgeschlagene Methylalkohol verwandt, da nach SCHOTT (1964) im Gegensatz zu Methanol mit Äthanol die kolloidale Sudanschwarz B-Lösung relativ stabil ist.)
Die Pufferphenol-Lösung entsteht durch das Zusammengießen von 0,3 g%iger $Na_2HPO_4 \cdot 12\ H_2O$ -Lösung in Aqua dest. und einer Lösung von 16 g kristallinem Phenol in 30 ml absolutem Äthanol. Der pH der Pufferlösung soll neutral bis leicht alkalisch sein. Wenn die Lösung sauer ist, so werden nur die Granula der Eosinophilen angefärbt (55).
Um gleiche Färbebedingungen bei allen Präparaten zu gewährleisten, werden eine gesättigte Sudanschwarz B- und eine Pufferphenol-Stammlösung verwendet.

Zur Färbezeit

Um die Länge der Färbedauer auf das Färbeergebnis zu prüfen, wurden mehrere Original-Knochenmarkausstriche verschieden lange gefärbt. Als Kriterium wurde die Sudanophilie der Neutrophilen herangezogen. Es zeigte sich, daß nach einer Färbezeit von 30 Minuten die Resultate durch längere Inkubation nicht mehr zu verbessern waren.

Zur Gegenfärbung

Ein Mangel der Sudanschwarz B-Färbung besteht darin, daß nur die stark sudanophilen Zellen gut differenzierbar sind, während die schwach angefärbten, die fakultativ sudanophilen und besonders die sudanophoben Elemente schlecht oder gar nicht zu unterscheiden sind. In der Literatur werden verschiedene Gegenfärbungen vorgeschlagen, am häufigsten Giemsa und Kernechtrot.
Mit beiden Farbstoffen kamen wir zu unbefriedigenden Ergebnissen. Als Gegenfärbung benutzten wir Methylenblau nach Löffler. Vor jeder Gegenfärbung muß die Farblösung neu angesetzt werden:
Löfflers Methylenblau Lösung wird 1 : 3 mit Aqua dest. verdünnt.
Die Präparate werden 8 bis 10 Sekunden gefärbt und dann sofort mit Aqua dest. abgespült. Die Zellkerne werden hellblau dargestellt, während das Zytoplasma ungefärbt bleibt.

Gegengefärbt wird bei einer Versuchsserie von jeder Kultivierungsstufe jeweils ein Präparat. Ist nur ein Präparat vorhanden, wird dieses zur Hälfte gegengefärbt.

---

1. Anmerkung
Bei der Verwendung von anderen deutschen oder ausländischen Sudanschwarz B-Sorten ergibt sich nach SCHOTT (1964) keine unterschiedliche Färbung.

Auswertung der Präparate

Mit der Übersichtsvergrößerung wird zuerst das nicht gegengefärbte Präparat auf Zelldichte und eventuell unterschiedliche Färbung untersucht.
Man wählt eine gleichmäßig gefärbte Stelle aus und wertet dann mit der Ölimmersion die einzelnen Zellen aus.
Im nicht gegengefärbten Präparat werden die sudanophilen Zellen gezählt (Neutrophile, Eosinophile und klar erkennbare Monozyten). Im gegengefärbten Präparat werden die fakultativ sudanophilen und die sudanophoben Zellen differenziert.
Treten im gegengefärbten Präparat negative Zellen auf, die eigentlich sudanophil sein müßten, so wird der prozentuale Anteil der sudanophoben Zellen in der Auswertung mit berücksichtigt.
Pro Zellart werden 100 Zellen ausgewertet. Ist dies nicht möglich, wie z.B. bei Panmyelopathien, so werden 50 Zellen gezählt. Wird auch diese Zahl nicht erreicht, so werden keine Angaben über die Zellart gemacht.
Im nicht gegengefärbten Präparat haben die Kriterien, die bei der panoptischen Färbung nach Pappenheim Anwendung finden, keine Gültigkeit. Die Differenzierung der einzelnen Knochenmarkzellen wird auf Grund der Zell- und Kerngröße, Kern-Plasmarelation, Kernform und Granulagröße durchgeführt.
In Anlehnung an HERTL (1959) unterscheiden wir folgende Granula-Größen:

I eben als Granulum erkennbar
II gut sichtbares Korn (Lipidgranula der Neutrophilen)
III grobes Granulum von der Größe der eosinophilen Granula

Die im nicht gegengefärbten Präparat ausgewerteten Zellen werden wie folgt unterschieden:

Neutrophiler Promyelozyt (siehe Abb. 3)

Er ist die größte Zelle der Granulopoese, sein Durchmesser schwankt um 16 μ. Das mittlere Kern-Plasmaverhältnis beträgt 1 : 3. Der Kern ist meist gebuchtet oder oval. Granula der Größe II, die hellbraun bis braun gefärbt sind, füllen das Zytoplasma aus und bedecken zum Teil, wenn auch nicht regelmäßig den Kern.

Neutrophiler Myelozyt (siehe Abb. 1-4)

Die Myelozyten sind kleiner als die Promyelozyten, besitzen aber ein ähnliches Kern-Plasmaverhältnis. Die verschiedenen Reifungsformen sind bei der Sudanschwarz B-Färbung nicht zu unterscheiden, die Granula der Größe II färben sich meist braun an und sind nur im Zytoplasma vorhanden.

Neutrophiler Metamyelozyt (siehe Abb. 1)

Der Zellkern ist stärker gebuchtet oder verformt.

Neutrophiler Stabkerniger (siehe Abb. 3)

Die Zellgröße ist im allgemeinen geringer, der Kern weist eine schmale C- oder S-Form ohne erkennbare Schnürfurchen auf. Das Zytoplasma ist mit Granula der Größe II, die sich braun bis dunkelbraun anfärben, angefüllt.

Neutrophiler Segmentkerniger (siehe Abb. 1-3)

Die Kerne besitzen eine oder mehrere segmentale Abschnürungen, überwiegend werden 3 bis 4 Kernsegmente gefunden. Die meist dunkelbraun gefärbten Granula der Größe II bedecken in dichter Lagerung das Zytoplasma.

Eosinophiler Myelozyt und Segmentkerniger

Bei den Eosinophilen werden unter dem Begriff des eosinophilen Myelozyten der eosinophile Promyelozyt, Myelozyt und der Metamyelozyt zusammengefaßt.Die reiferen Formen werden als eosinophile Segmentkernige bezeichnet.
Die Unterscheidung zu den neutrophilen Formen gelingt durch die spezifische Granulation sehr leicht.Die Granula sind größer als die der Neutrophilen und färben sich nicht gleichmäßig,sondern regelmäßig nur in einer dicken Randschale an.Die Randschale färbt sich hellbraun bis braun an.

Monozyt (siehe Abb.4)
Er besitzt einen gelappten,vielgestaltigen Kern.
Das Zytoplasma weist Granula der Größe I auf.Die Unterscheidung zum neutrophilen Myelozyten ist oft sehr schwierig,und deshalb rekrutieren sich die vorhandenen Aussagen zum größten Teil aus den Angaben des gegengefärbten Präparates.

Die im gegengefärbten Präparat ausgewerteten Zellen lassen sich durch die bekannten Kriterien gut differenzieren.
Auswertungssystem für die neutrophilen Promyelozyten, Myelozyten,Metamyelozyten,Stab- und Segmentkernigen, eosinophilen Myelozyten,Segmentkernigen :

Färbestufe 0 = Die Zelle bzw. ihre Granula zeigen keine Anfärbbarkeit.

Färbestufe 1 = Die Zelle zeigt diffuse hellbraune Anfärbbarkeit.

Färbestufe 2 = Die Granula der Zelle färben sich hellbraun an.

Färbestufe 3 = Die Granula der Zelle färben sich braun an.

Färbestufe 4 = Die Granula der Zelle färben sich dunkelbraun bis schwarz an.

(siehe 2. Anmerkung Seite 18)

Entsprechend der Anfärbbarkeit der Granula werden die Zellen den Färbestufen 0 bis 4 zugeordnet. Man bestimmt nun das Produkt aus Zellzahl und Stufe und dividiert die Summe der Produkte aller 5 Stufen durch die Gesamtzahl der Zellen einer Art. Der somit erhaltene mittlere Färbestufenwert der Granula einer Zelle, der zwischen 0 und 4 liegt, stellt ein Maß für die Anfärbbarkeit der Granula der Zellart dar.
Die neutrophilen und eosinophilen Zellen werden auch nach der in den Zellen vorhandenen Granula-Anzahl ausgewertet, wobei wir uns an das von STORTI und PERUGINI (1949/1951) veröffentlichte Auswertungssystem anlehnen:

Granula-Dichte 0 = Die Zelle enthält keine Granula.
Granula-Dichte 1 = Die Zelle enthält vereinzelt (bis 10) Granula.
Granula-Dichte 2 = Die Zelle enthält einzelne Granulazusammenlagerungen.
Granula-Dichte 3 = Die Zelle ist voll von Granula.

Entsprechend der in den Zellen vorhandenen Granula-Anzahl werden die Zellen dem Granula-Dichte-Index zugeordnet.

Die Korrelation beider Ergebnisse (Granulafärbung und Granula-Dichte) läßt Aussagen über den relativ-quantitativen Lipidgehalt der Zellen zu.
Es werden weiterhin bei den oben genannten Zellen die Mittelwerte der vakuolen- und glanzkornhaltigen Zellen in % angegeben.
Eine Zelle wird als vakuolenhaltig bezeichnet, wenn mindestens eine Vakuole von der Größe eines groben Granulums im Zytoplasma der Zelle auftritt. Eine Zelle wird als glanzkornhaltig bezeichnet, wenn mindestens ein Glanzkorn im Zytoplasma der Zelle gesehen wird. Glanzkörner stellen sich mit Sudanschwarz B als 1/2 bis 2 µ große tief-schwarze runde Körper dar (BEISSEL 1969).

Für Monozyten, Myeloblasten, Erythroblasten, Lymphozyten und die Plasmazellen werden die Mittelwerte der vakuolen- und der glanzkornhaltigen Zellen in % angegeben. Für die Monozyten, Myeloblasten und Plasmazellen werden weiterhin die eine Granulation enthaltenen Zellen in % angegeben.

---

2. Anmerkung

Bei der Verwendung von Äthylalkohol als Lösungsmittel von Sudanschwarz B ist nach HERMANSKY (1965) und eigenen Erfahrungen dunkelbraun bis schwarz als Optimum der neutrophilen Granulaanfärbung anzusehen.
Bei dieser Einstufung geht es um die verschieden starke Einlagerung von Sudanschwar B in die Lipidschichten der Granula. Alle Ausstriche (s.o.) wurden konstanten Bedingungen unterworfen, so daß die Konzentration von Sudanschwarz B in den Lipidschichten der Granula eine Funktion der Menge der Lipide ist.
MEIER (1959) beschrieb die Fettfärbung mit Sudanfarbstoffen als "Grenzflächenadsorption". Bei dieser Annahme würde die Zeit der Anfärbung eine bedeutende Rolle für die Konzentration des Farbstoffes an der Phasengrenzfläche spielen. Durch die geschilderten Vorversuche ist ein Optimum der Färbung färbezeitmäßig erarbeitet worden.
Es kann sich bei der Lipidfärbung nicht um einen reinen Adsorptionsvorgang handeln, da sich der Farbstoff wieder von der Grenzfläche durch ein Lösungsmittel, in unserem Fall Methylalkohol, abtrennen lassen müßte, d.h. der Färbevorgang müßte reversibel sein, was nicht möglich ist.
So sind in der oben genannten Abhängigkeit sicherlich mehrere unbekannte Größen enthalten.
Bei der Färbestufe 1 wird von der Voraussetzung ausgegangen, daß die Sudanschwarz B-positiven Lipide mit der Eiweißstruktur der Granula verbunden sind (MAURI 1963) und diese Bindungen unter noch nicht bekannten Ursachen gelöst werden und die Lipide diffus im Zytoplasma auftreten.

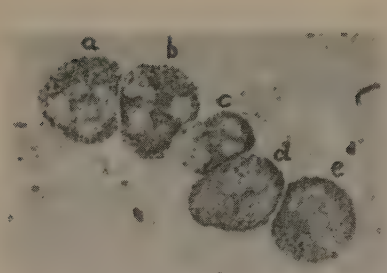


Abb.1 Originalpräparat (Fall 4)

a,b,c=Segmentkernige mit der Färbestufe 4, dem Granuladichte-Index 3
d=Metamyelozyt mit der Färbestufe 3,dem Granuladichte-Index 3
e=Myelozyt mit der Färbestufe 3,dem Granuladichte-Index 3

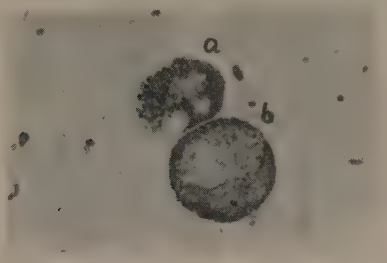


Abb.2 Originalpräparat (Fall 4)

a=Segmentkerniger mit der Färbestufe 4, dem Granuladichte-Index 3
b=Myelozyt mit der Färbestufe 3,dem Granuladichte-Index 3

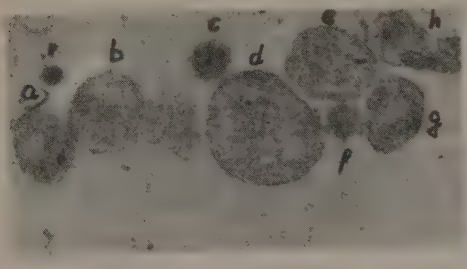


Abb.3 48-Stundenpräparat (Fall 4)

a=Stabkerniger mit der Färbestufe 3,dem Granuladichte-Index 3
b,e=Myelozyten mit der Färbestufe 3,dem Granuladichte-Index 3
c,f=Lymphozyten mit Färbestufe 0,dem Granuladichte-Index 0
d=Promyelozyt mit der Färbestufe 3,dem Granuladichte-Index 3
g,h=Segmentkernige mit der Färbestufe 3, dem Granuladichte-Index 3

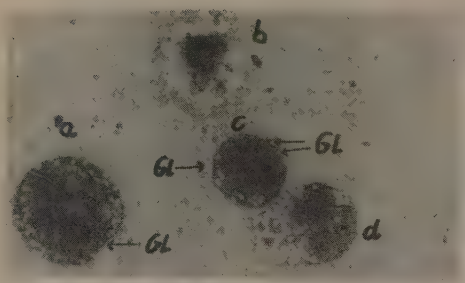


Abb.4 120-Stundenpräparat (Fall 5)

a=Monozyt mit dunkelbraunen Granula der Größe I, viele kleine Vakuolen und ein Glanzkorn (GL)
b=Phagozyt
c=Myelozyt mit der Färbestufe 3, dem Granuladichte-Index 1, mehrere kleine Vakuolen, drei Glanzkörner (GL)
d=Monozyt mit vereinzelt braunen Granula der Größe I, viele Vakuolen

IV. Ergebnisse

Die untersuchten Knochenmarkproben wurden nach Diagnosen geordnet.Von den untersuchten Proben wurden bei den Fällen 1, 2, 8, 9, 10, 13, 15, 17 und 18 die Originalpräparate,von den Fällen 3, 4, 6, 7, 11, 14, 16, 19 und 20 wurden die Originalpräparate,die 24-, die 48- und die 72-Stundenpräparate ausgewertet,im Fall 12 war die Auswertung des 72-Stundenpräparates nicht möglich.Im Fall 5 wurden die Originalpräparate, die 48-,die 72-,die 96- und die 120-Stundenpräparate herangezogen.Insgesamt wurden 58000 Zellen differenziert.

Folgende Fälle wurden untersucht :

Fall 1 Elise K., 68J.

Die Patientin wurde wegen eines abdominellen Tumors aufgenommen.Es bestand seit 4 Jahren ein Diabetes mellitus.

Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte: Erythrozyten =3,78 Mill./mm^3,Hb=13,4 g%,Hb_E=31 pg, Leukozyten =6400/mm^3,davon Myelozyten=1%,Metamyelozyten=4%,Stabkernige=2%,Segmentkernige=66%,Monozyten=4%,Eosinophile=1%,Basophile=3%,Lymphozyten=19%, Thrombozyten = 137000/mm^3

Das Sternalmark zeigte einen im wesentlichen unauffälligen Befund mit guter Peroxydasereaktion.

Fall 2 Klara T., 71J.

Die Patientin wurde wegen eines Lymphosarkoms aufgenommen.

Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte: Erythrozyten = 4,2 Mill./mm^3,Hb=11,8 g%,Hb_E=28 pg, Leukozyten = 7300/mm^3,davon Stabkernige=3%,Segmentkernige=85%,Monozyten=2%,Lymphozyten=10%, Thrombozyten = 330000/mm^3

Das Punktat ergab ein im Zusammenhang mit dem Krankheitsbild unauffälliges Knochenmark mit guter Peroxydasereaktion.

Fall 3 Eugen U., 62 J.

Der Patient kam wegen eine Anämie und einer Gewichtsabnahme zur stationären Aufnahme.

Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 2,76 Mill./mm^3, Hb = 9,5 g%, Hb_E=34,2 pg
Leukozyten = 7600/mm^3, davon Stabkernige = 3%, Segmentkernige = 52 %, Eosinophile = 3%, Monozyten=3%, atypische mononukleäre Zellen (AMZ)= 3%, Lymphozyten= 36%
Thrombozyten = 287000/mm^3

Das Sternalmark zeigte eine etwas angeregte, rechtsverschobene Granulopoese mit einer guten Peroxydasereaktion. Die Erythropoese war normoblastisch angeregt.

Diagnose: Bild wie bei einer Blutungsanämie oder Eisenmangelanämie.

Im weiteren Verlauf konnte klinisch eine intestinale Blutungsquelle nachgewiesen werden.

Fall 4 Martha J., 66 J.

Die Patientin wurde wegen einer thrombopenischen Blutungsneigung aufgenommen.

Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 4,35 Mill./mm^3, Hb= 13,3 g%, Hb_E= 30,5 pg
Leukozyten = 7400/mm^3, davon Segmentkernige = 75%, Eosinophile = 1%, Monozyten = 4%, AMZ = 4%, Lymphozyten= 16%
Thrombozyten = 28000/mm^3

Das Sternalpunktat ergab eine in allen Reifestufen vertretene Granulopoese mit einer guten Peroxydasereaktion, eine angeregte Erythropoese, Megakaryozyten waren in allen Reifestufen rechlich vorhanden.

Diagnose: Angeregte Erythropoese und Megakaryopoese, die fehlende Eisenspeicherung im Retikulum spricht für eine sekundär-chronische Blutungsanämie.

Fall 5 Helene K., 65 J.

Die Patientin kam mit blutigen Stühlen zur Aufnahme. Als Ursache konnte eine Colondiverticulitis abgeklärt werden.

Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 3,28 Mill./mm^3, Hb=11,6 g%, Hb_E=28 pg
Leukozyten = 7900/mm^3, davon Stabkernige=1 %, Segmentkernige=76 %, Eosinophile=2 %, Lymphozyten=21 %
Thrombozyten = 216000/mm^3

Die Patientin erhielt bis 1 Woche vor der Punktion 21 Tage lang 80 mg Ferrlecit®/die, weiterhin bis 2 Wochen vorher 7 Tage lang 2 x 1 g Tetracyclin/die, dann 5 Tage lang 2 g Chloramphenicol/die und dann 6 Tage lang 4 x 1 g Penicillin/die.

Ergebnis der Sternalpunktion:
Große und kleine Reticulumzellen vermehrt, reichlich Plasmazellen, Granulopoese unauffällig mit guter Peroxydasereaktion, Monozyten und Eosinophile vertreten, Erythropoese rechtsverschoben, normoblastisch.

Diagnose: Retikuläre Reaktion, sonst unauffälliger Befund.

Fall 6 August B., 81 J.

Seit längerer Zeit war eine Anämie und eine Infektanfälligkeit des Patienten bekannt. Der Patient erhielt im Verlauf früherer Behandlungen viele Bluttransfusionen. Zur Zeit der Sternalpunktion bestand ein Harnwegsinfekt.

Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 2,08 Mill./mm^3, Hb=7,9 g%, Hb_E=38 pg
Leukozyten = 4100/mm^3, davon Promyelozyten=4 %, Myelozyten=3 %, Metamyelozyten=3 %, Stabkernige=30 %, Segmentkernige=18 %, Monozyten=4 %, AMZ=16 %, Eosinophile=1 %, Lymphozyten=21 %
Thrombozyten = 66000/mm^3

Das Sternalpunktat ergab eine etwas angeregte, linksverschobene Granulopoese mit guter Peroxydasereaktion, Erythropoese stark vermindert, normoblastisch, Megaloblastoide kamen vor, reichlich Eisenspeicherung im Retikulum.

Diagnose: Sideroachrestische Anämie mit starker Aplasie der Erythropoese.

Der Patient verstarb später an den Folgen nicht mehr beherrschbarer Begleiterkrankungen.

Fall 7 Bruno W., 76 J.

Der Patient kam wegen einer Bronchopneumonie zur Aufnahme. Zusätzlich bestand eine erhebliche haemorrhagische Diathese.

Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 1,42 Mill./mm^3, Hb=4,4 g%, Hb_E=31 pg
Leukozyten = 500/mm^3, davon Segmentkernige=15 %,
AMZ=20 %, Lymphozyten=65 %
Thrombozyten = 21000/mm^3

Das Sternalpunktat zeigte eine stark verminderte Granulopoese mit vorwiegend Promyelozyten und guter Peroxydasereaktion, vermehrt Monozyten. Die Erythropoese war vermehrt, stark linksverschoben und zeigte vereinzelt Megaloblasten. Die Megakaryozyten waren vermindert.

Diagnose: Granulopoese und Thrombopoese stark vermindert bei auffällig gesteigerter Erythropoese.

Im weiteren Verlauf wurde die haematologische Erkrankung als Panmyelopathie diagnostiziert.

Fall 8 Elsbeth K., 64 J.

Die Patientin kam mit septischen Temperaturen zur Aufnahme. Es bestanden eine unklare Anämie und Leukopenie.

Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 2,45 Mill./mm^3, Hb=7,2 g%, Hb_E=29,3 pg
Leukozyten = 2100/mm^3, davon Metamyelozyten=5 %, Stabkernige=8 %, Segmentkernige=36 %, Eosinophile=2 %, Basophile=1 %, Monozyten=2 %, Lymphozyten=36 %
Thrombozyten = 306000/mm^3
Die Patientin erhielt seit längerer Zeit orale Eisenpräparate und Vitamininjektionen.
Das Sternalmark ergab eine Vermehrung der großen und kleinen Retikulumzellen, Lymphozyten und Plasmazellen. Die Granulopoese war stark vermindert, linksverschoben, Mitosen reichlich, Peroxydasereaktion gut positiv. Erythropoese vermehrt, linksverschoben, normoblastisch, reichlich Megaloblastoide.
Diagnose: Retikulumzellvermehrung, stark verminderte Granulopoese, angeregte Erythropoese.
Im weiteren Verlauf wurde bei der Patientin eine Panmyelopathie ohne Beteiligung der Thrombopoese angenommen.

Fall 9 Hermann B., 57 J.
Der Patient kam mit Müdigkeit, Inappetenz und Oberbauchdruck zur Aufnahme. Es wurde ein schwerer Leberparenchymschaden festgestellt.
Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 3,67 Mill./mm^3, Hb=13,2 g%, Hb_E=31 pg
Leukozyten = 3800/mm^3, davon Stabkernige=7 %, Segmentkernige=55 %, Eosinophile=6 %, Monozyten=5 %, Lymphozyten=27 %
Thrombozyten = 82000/mm^3
Der Patient erhielt seit 9 Tagen 50 mg Prednisolon und 275 mg Tetracyclin/die.
Das Sternalpunktat zeigte bis auf eine leichte Vermehrung der Lymphozyten und Monozyten ein normales Ergebnis, die Peroxydasereaktion war gut positiv.
Diagnose: Splenogene Markhemmung.

Fall 10 Gertrud D., 42 J.

Die Patientin wurde mit einer Anämie und einem Leberparenchymschaden aufgenommen.

Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 2,82 Mill./mm^3, Hb=10,3 g%, Hb_E=36 pg
Leukozyten = 12700/mm^3, davon Stabkernige=3 %, Segmentkernige=69 %, Eosinophile=1 %, Monozyten=5 %, Lymphozyten=15 %, AMZ=7 %
Thrombozyten=326000/mm^3

Das Sternalmark zeigte eine Retikulum- und Plasmazellvermehrung, eine normale Granulopoese mit guter Peroxydasereaktion und eine leicht angeregte Erythropoese.

Fall 11 Ella H., 78 J.

Bei der Patientin bestand eine Lebercirrhose mit einer portalen Hypertension, eine Encephalopathie und ein Diabetes mellitus.

Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 2,38 Mill./mm^3, Hb=7,9 g%, Hb_E=33 pg
Leukozyten = 2900/mm^3, davon Stabkernige=8 %, Segmentkernige=44 %, Eosinophile=3 %, Basophile=1 %, Monozyten=3 %, Lymphozyten=41 %
Thrombozyten = 66000/mm^3

Das Sternalpunktat zeigte eine Vermehrung der großen und kleinen Retikulumzellen, reichlich Lymphozyten, eine in allen Reifestufen vertretene Granulopoese mit einer guten Peroxydasereaktion. Die Erythropoese war angeregt, linksverschoben, normoblastisch.

Diagnose: Stellenweise erheblich retikulär-lymphozytäre Reaktion, wie bei einem chronischen Leberprozeß und eine angeregte Erythropoese. Das Blutbild muß als Folge einer splenogenen Markhemmung aufgefaßt werden.

Fall 12 Max K., 74 J.

Der Patient kam mit einer Oberschenkelfraktur zur Aufnahme. Es bestand eine unklare Anämie, die sich im Verlauf der Behandlung auf eine Hepatopathie zurückführen ließ.

Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 2,56 Mill./mm^3, Hb=9,2 g%, Hb_E=36 pg
Leukozyten = 6000/mm^3, davon Stabkernige=5 %, Segmentkernige=72 %, Eosinophile=3 %, Monozyten=2 %, AMZ=8 %, Lymphozyten=10 %
Thrombozyten = 197000/mm^3

Der Patient erhielt vor der Sternalpunktion seit 4 Tagen 3 x 1 Dragee Andantol®.

Ergebnis der Sternalpunktion:
Die großen lymphoiden Retikulumzellen sind vermehrt, atypische Riesenzellen, viele Monoblasten und Monozyten kommen vor. Granulopoese leicht rechtsverschoben, Peroxydasereaktion gut positiv, aber schwach peroxydasepositive Zellen im Sinne der Monopoese, Erythropoese bis auf einzelne Megaloblastoide unauffällig.

Diagnose: Auffällig retikulär-monozytäre Reaktion, die Anämie könnte auf Folsäuremangel oder ähnlichem beruhen.

Fall 13 Ebrahim G., 43 J.

Der Patient kam mit einer Cholecystitis und einer Anämie zur Aufnahme.

Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 3,92 Mill./mm^3, Hb=11 g%, Hb_E=28 pg
Leukozyten = 5700/mm^3, davon Stabkernige=9 %, Segmentkernige=36 %, Eosinophile=2 %, Monozyten=4 %, Lymphozyten=48 %, AMZ=1 %.
Thrombozyten = 164000/mm^3

Der Patient erhielt seit 2 Wochen 2 g Chloramphenicol/die.

Das Sternalpunktat ergab eine in allen Reifestufen vertretene Granulopoese mit toxischer Granulation und guter Peroxydasereaktion, eine etwas angeregte Erythropoese, linksverschoben. Reichlich Lymphozyten und Plasmazellen, Retikulumzellen geringgradig vermehrt.

Diagnose: Möglicherweise ist das Blutbild als Folge einer Leberparenchymschädigung anzusehen.

Fall 14 Erich Sch., 78 J.

Der Patient kam mit einer allgemeinen Schwäche und leichten Ödemen zur Aufnahme. Es wurde eine chronische Pyelonephritis und eine Anämie diagnostiziert.
Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 2,86 Mill./mm^3, Hb=8,1 g%, Hb_E=28,2 pg
Leukozyten = 7600/mm^3, davon Stabkernige =12 %, Segmentkernige=76 %, Monozyten=1 %, Lymphozyten=11 %
Thrombozyten = 435000/mm^3
Der Patient erhielt seit 4 Tagen 2 g Tetracyclin/die und seit 6 Tagen 2 Ampullen Ferrlecit®/die.
Das Sternalpunktat ergab eine in allen Reifestufen vertretene Granulopoese mit guter Peroxydasereaktion, eine gering angeregte Erythropoese, reichlich Eisenspeicherung, viele große und kleine Retikulumzellen.

Diagnose: Etwas angeregte Erythropoese wie bei renaler Insuffizienz, angeregtes Retikulum.

Fall 15 Pauline K., 79 J.

Die Patientin wurde mit dem Verdacht auf Plasmocytom aufgenommen.
Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 3,64 Mill./mm^3, Hb=9,9 g%, Hb_E=27,1 pg
Leukozyten = 8900/mm^3, davon Stabkernige=8 %, Segmentkernige=82%, Eosinophile=2 %, Monozyten=5 %, AMZ=1 %, Lymphozyten=2 %
Thrombozyten = 274000/mm^3

Das Sternalpunktat ergab keinen Anhalt für ein Plasmocytom, es zeigte eine vermehrte Granulopoese, wenig toxisch granuliert, mit guter Peroxydasereaktion und eine angeregte Erythropoese, die Plasmazellen waren leicht vermehrt.

Fall 16 Erika Z., 46 J.

Die Patientin kam mit peripheren Durchblutungsstörungen und einer unklaren Anämie zur Aufnahme.
Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 1,41 Mill./mm^3, Hb=6 g%, Hb_E=39 pg
Leukozyten = 5000/mm^3, davon Segmentkernige=52%, Eosinophile=8%, Basophile=2%, Monozyten=2%, AMZ=8%, Lymphozyten=28%
Thrombozyten = 87000/mm^3
Die Patientin erhielt seit 5 Tagen 1,5 g Tetracyclin/die und seit 4 Tagen 3 x 10 Tropfen Vitamin K/die.
Das Sternalpunktat zeigte eine gegenüber der Erythropoese relativ zurückgedrängte Granulopoese, die aber in allen Reifestufen vorhanden war, reichlich Riesenstäbe und eine gute Peroxydasereaktion. Die Erythropoese war stark vermehrt, normoblastisch, linksverschoben, Makroblasten kamen vor.
Diagnose: Fehlende Eisenspeicherung im Reticulum bei angeregter Erythropoese spricht für eine Infektanämie.

Fall 17 Renate B., 39 J.

Die Patientin kam mit einer infektiösen Hepatitis zur Aufnahme.
Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 4,06 Mill./mm^3, Hb=11,5 g%, Hb_E=28 pg
Leukozyten = 5900/mm^3, davon Segmentkernige/52 %, Eosinophile=4 %, Monozyten=6 %, Lymphozyten=38 %,
Thrombozyten = 402000/mm^3
Das Sternalpunktat zeigte eine mäßig reticuläre Reaktion und Reifungsdissoziationen der Erythropoese bei normaler Granulopoese mit guter Peroxydasereaktion.

Fall 18 Helene G., 53 J.

Die Patientin kam mit einem Plasmocytom zur Aufnahme. Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 1,17 Mill./mm^3, Hb = 6,4 g%, Hb_E= 37,2 pg
Leukozyten = 5500/mm^3, davon Stabkernige = 14%, Segmentkernige = 42%, Eosinophile = 1%, Basophile = 1%, Monozyten = 10%, AMZ = 6%, Lymphozyten = 26%
Thrombozyten = 67000/mm^3
Die Patientin erhielt vor der Punktion seit 1 Monat 5 mg Chlorambucil/die und seit 20 Tagen jeden 2.Tag 500 γ Vitamin B_{12}.
Das Sternalpunktat ergab eine sehr verdrängte Granulo- und Erythropoese, die Megakaryozyten waren vermindert. Plasmocytomzellen bildeten den Hauptbestandteil.

Fall 19 Anna Sch., 83 J.

Die Patientin wurde mit einer käsigen Lymphknotentuberkulose und einer chronischen Pyelonephritis aufgenommen. Weiter bestand eine Anämie und Thrombopenie.
Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 2,2 Mill./mm^3, Hb = 6,6 g%, Hb_E= 30 pg
Leukozyten = 10500/mm^3, davon Stabkernige = 6%, Segmentkernige = 68%, Monozyten = 4%, AMZ = 1%, Lymphozyten = 21%
Thrombozyten = 41000/mm^3
Die Patientin erhielt vor der Sternalpunktion 2 Blutkonserven, 10 Tage lang 275 mg Tetracyclin/die, 7 Tage lang täglich 80 mg Ferrlecit®, dann alle 2 Tage 80 mg Ferrlecit® und seit 5 Tagen 50 mg Prednisolon/die.
Ergebnis der Sternalpunktion:
Große und kleine Retikulumzellen vermehrt, Granulopoese vermindert, Myeloblasten kommen vor, Peroxydasereaktion stark positiv, Monozyten stark vermehrt. Erythropoese deutlich vermindert, normoblastisch.

Diagnose: Vielleicht handelt es sich um eine akute aleukämische Monozyten-Leukämie.
Bei der später vorgenommenen Sternalpunktion wurde der Verdacht bestätigt. Trotz intensiver Behandlung kam die Patientin im Herz- und Kreislaufversagen ad exitum.

Fall 20 Irma Sch., 59 J.
Die Patientin wurde wegen einer Myeloblasten-Leukämie aufgenommen.
Das Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion zeigte:
Erythrozyten = 2,37 Mill./mm^3, Hb=8,1 g%, Hb_E=34 pg
Leukozyten = 2400/mm^3, davon Stabkernige=4 %, Segmentkernige=8 %, Eosinophile=5 %, Lymphozyten=2 %, Mikroblasten=65 %, Parablasten=16 %
Thrombozyten = 208000/mm^3
Die Patientin erhielt vor der Sternalpunktion seit 8 Tagen 25 mg Prednisolon/die und seit 7 Tagen 1 Mill. E. Penicillin/die.
Das Sternalpunktat zeigte im Vordergrund stehende Myeloblasten mit einem normalen Kern-Plasmaverhältnis und einer verwaschenen Kernstruktur. Es finden sich fast keine Mitosen. Promyelozyten und alle weiteren Reifestufen der Granulopoese fehlen fast vollständig. Die Blasten sind peroxydasenegativ. Die Erythropoese ist relativ gut erhalten.
Diagnose: Myeloblasten-Leukämie.

Fall 1 - 2: Normal

Fall 3 - 4: Blutungsanämien

Fall 5: Blutungsanämie bei Colondiverticulitis

Fall 6: Sideroachrestische Anämie

Fall 7 - 8: Panmyelopathien

Fall 9 - 13: Leberparenchymschäden mit splenogener Markhemmung

Fall 14 - 16: Infektanämien

Fall 17: Infektiöse Hepatitis

Fall 18: Plasmocytom

Fall 19: Monozyten-Leukämie

Fall 20: Myeloblasten-Leukämie

Tabelle 1: Diagnosen der untersuchten Knochenmark-Proben

IV.a) Ergebnisse der Sudanschwarz B-Färbung der Originalpräparate

1. Neutrophile Zellen

Mit dem Farbstoff Sudanschwarz B lassen sich nur die Granula der Zellen anfärben. Diese besitzen die Größe II, sind zahlreich im Zytoplasma der Zellen vorhanden und bedecken zum Teil die Zellkerne. Die Farbintensität der Granula nimmt mit zunehmender Reifung der Zellen zu. Die aus den 20 Originalpräparaten ermittelten Färbestufendurchschnittswerte betragen für den Promyelozyten 2,73, den Myelozyten 3,18, den Metamyelozyten 3,26, den Stabkernigen 3,60 und den Segmentkernigen 3,67 (siehe Abb. 5).

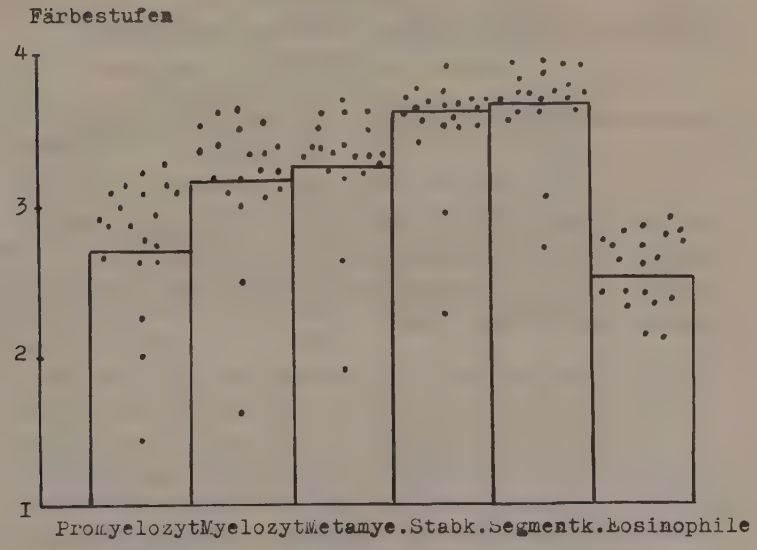


Abb. 5: Färbestufenangaben der Neutrophilen und Eosinophilen in den Originalpräparaten

Statistisch zeigt sich nach dem T-Test (Student) folgendes:
Der Myelozyt hat mit 99%iger Wahrscheinlichkeit eine größere Färbestufe als der Promyelozyt. Zwischen dem Myelozyten und dem Metamyelozyten ist kein signifikanter Unterschied vorhanden. Der Stabkernige besitzt mit 95%iger Wahrscheinlichkeit eine größere Färbestufe als der Metamyelozyt. Zwischen dem Stabkernigen und dem Segmentkernigen besteht kein signifikanter Unterschied.
Für diese Berechnungen ist v=38, der t-Tabellenwert für 2P=0,05 beträgt 2,02 und der t-Tabellenwert für 2P=0,01 2,71.

Promyelozyt-Myelozyt: Differenz der Mittelwerte=0,45
t-berechnet=3,21
Myelozyt-Metamyelozyt: Differenz der Mittelwerte=0,08
t-berechnet=0,5
Metamyelozyt-Stabkerniger: Differenz der Mittelwerte=0,34
t-berechnet=2,31
Stabkerniger-Segmentkerniger: Differenz der Mittelwerte=0,07
t-berechnet=0,5

Bei den Färbestufenangaben fallen die niedrigen Werte bei der Blutungsanämie bei Colondiverticulitis (Fall 5) und der infektiösen Hepatitis (Fall 17) besonders auf. (siehe Tabelle 2)

	Granuladichte-Index	Färbestufen
Normal	2,94	3,40
Blutungsanämien	2,95	3,39
Blutungsanämien bei Colondiverticulitis	2,38	1,98
sideroachrestische Anämie	2,99	3,39
Panmyelopathie (Fall 7)	2,36	3,30
Panmyelopathie (Fall 8)	2,97	3,25
Leberparenchymschäden	2,90	3,35
Infektanämien	2,92	3,49
infektiöse Hepatitis	2,88	2,60
Plasmocytom	2,87	3,57
Monozyten-Leukämie	2,91	3,48
Myeloblasten-Leukämie	2,70	3,24
Mittelwert	2,81	3,24

Tabelle 2: Verteilung der Granuladichte und der Färbestufen der Neutrophilen in den untersuchten Originalpräparaten

Die Ergebnisse annähernd gleicher Krankheiten wurden zusammengefaßt und die Mittelwerte angegeben.

Die Granula-Dichte ist in den einzelnen Zellarten gleichartig. Der aus den 20 Originalpräparaten ermittelte Granuladichte-Index-Durchschnittswert beträgt mit Ausnahme der Stabkernigen für jede Zellart 2,87. Der Durchschnittswert beträgt für den Stabkernigen 2,82.
Betrachtet man die Granuladichte der Neutrophilen in Beziehung zu den einzelnen Erkrankungen, so ist der Granuladichte-Index-Durchschnittswert bei einem Fall mit Blutungsanämie (Fall 5), bei einem Fall mit Panmyelopathie (Fall 7) und bei der Myeloblasten-Leukämie (Fall 20) gegenüber der Norm vermindert. (siehe Tabelle 2.

Bei dem einen Fall mit Panmyelopathie und bei der Myeloblasten-Leukämie nimmt die Granuladichte vom Promyelozyten mit zunehmender Reifung der Zellen ab, während bei dem einen Fall mit Blutungsanämie eine Zunahme zu beobachten ist.Bei den anderen Fällen werden in den einzelnen Reifestufen in Hinsicht auf die Granula-Dichte keine Unterschiede gesehen.

	Granuladichte-Index			
Fall 5	2,01	2,08	2,32	2,66	2,81
Fall 7	2,82	2,33	2,26	2,18	2,21
Fall 20	2,80	2,80	2,73	2,47	2,69

Tabelle 2a: Promyelozyt Myelozyt Metamyel. Stabkern.Segmentkernige

Korreliert man die Ergebnisse der Granula-Anzahl und der Färbestufen der Neutrophilen (Granula-Dichte + Färbestufe/2), so ist der Lipidgehalt der neutrophilen Zellen bei der Blutungsanämie bei Colondiverticulitis, bei einem Fall mit Panmyelopathie, bei der infektiösen Hepatitis und bei der Myeloblasten-Leukämie verringert. (siehe Abb. 6)

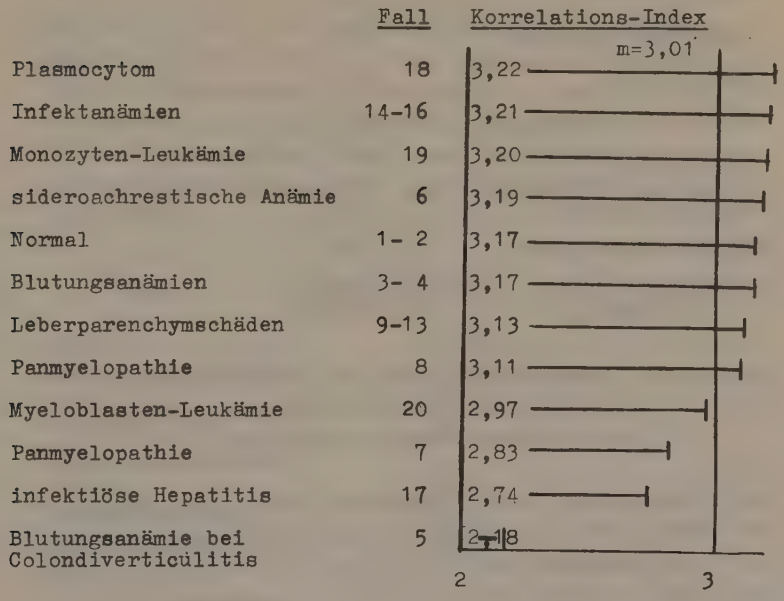


Abb. 6: Korrelation der Ergebnisse bei den Neutrophilen in den Originalpräparaten

	% der Zellen mit Vakuolen	Glanzkörner
Normal	5	12
Blutungsanämien	3,4	0,2
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	8,6	0
sideroachrestische Anämie	6	1
Panmyelopathien	6,4	4,4
Leberparenchymschäden	5,3	2
Infektanämien	8,2	2,7
infektiöse Hepatitis	6	0
Plasmocytom	3	5
Monozyten-Leukämie	6	7,2
Myeloblasten-Leukämie	10,6	2,4
Mittelwert	6,3	3,5

Tabelle 3: Prozentualer Anteil der vakuolen- und glanzkornhaltigen Neutrophilen in den untersuchten Originalpräparaten

Die höchsten Anteile an vakuolenhaltigen Zellen werden bei der Myeloblasten-Leukämie (Fall 20),bei einem Fall mit Blutungsanämie (Fall 5) und bei einem Fall mit Leberparenchymschaden (Fall 13) mit 11% gesehen.Fall 5 und Fall 13 wurden vor der Sternalmarkpunktion mit Chloramphenicol behandelt.

2. Eosinophile Zellen

Mit Sudanschwarz B werden nur die Granula angefärbt. Die eosinophilen Granula sind größer als die der Neutrophilen (Größe III). Sie färben sich in einer Randschale mit einem hellen "Hof" an und bedecken vollständig das Zytoplasma. Der aus den Originalpräparaten ermittelte Färbestufendurchschnittswert beträgt für den eosinophilen Myelozyten/Segmentkernigen 2,52.(siehe Abb. 5) Der Unterschied in der Anfärbbarkeit der eosinophilen Granula der Myelozyten und der Segmentkernigen ist so gering, daß die Färbestufenangaben als Mittelwerte beider angegeben werden (maximale Färbestufendifferenz 0,16).
Bei den untersuchten Fällen ergibt sich im Hinblick auf die in den Zellen vorhandene Granula-Dichte kein Unterschied.

	Färbestufen der Eosinophilen	% der Zellen mit Vakuolen
Normal	2,71	2
Blutungsanämien	2,38	1
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	2,09	9
sideroachrestische Anämie	2,31	3
Panmyelopathien	2,61	7,7
Leberparenchymschäden	2,67	3
Infektanämien	2,47	3,7
infektiöse Hepatitis	2,29	2
Plasmocytom	2,60	0
Monozyten-Leukämie	2,44	0
Myeloblasten-Leukämie	2,77	2
Mittelwert	2,49	3

Tabelle 4: Verteilung der Färbestufen der Eosinophilen und der prozentuale Anteil der vakuolenhaltigen Zellen in den untersuchten Originalpräparaten

Bei den Färbestufenangaben zeigen dieselben Fälle wie bei den Neutrophilen die niedrigsten Werte. Die Differenz zu den übrigen Fällen ist aber weniger ausgeprägt.
Auf die Angaben der glanzkornhaltigen Zellen wird verzichtet, da eine genaue Differenzierung der Glanzkörner gegenüber einigen in der Zelle vorkommenden intensiver gefärbten Granula mit Sudanschwarz B nicht eindeutig möglich ist.

3. Monozyten

Die Monozyten besitzen in der Mehrzahl der Fälle in allen Zellen eine feine sudanophile Granulation der Granulagröße I, die sich in einem hellbraunen bis braunen Farbton anfärbt. Im Durchschnitt wird in 98,5 % der Zellen diese Granulation beobachtet. Bei der Myeloblasten-Leukämie (Fall 20) waren für die Beurteilung zu wenig Monozyten vorhanden.

	% der Zellen mit Vakuolen	% der Zellen mit Glanzkörnern
Normal	20	10
Blutungsanämien	9	1
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	35	0
sideroachrestische Anämie	12	0
Panmyelopathien	25	7,5
Leberparenchymschäden	9,8	1
Infektanämien	14	5,7
infektiöse Hepatitis	32	0
Plasmocytom	5	22
Monozyten-Leukämie	10	16
Mittelwert	17,2	6,3

Tabelle 5: Prozentualer Anteil der vakuolen- und glanzkornhaltigen Monozyten in den untersuchten Originalpräparaten

Bei der Blutungsanämie bei Colondiverticulitis (Fall 5) und bei der infektiösen Hepatitis (Fall 17) werden die höchsten Anteile an vakuolenhaltigen Zellen gesehen. Glanzkörner treten besonders zahlreich in den Zellen des Plasmocytoms (Fall 18) und der Monozyten-Leukämie (Fall 19) auf.
Bei der Monozyten-Leukämie kommen auch in der Anzahl auswertbare "Blasten" vor. Diese besitzen in 98 % eine feine sudanophile Granulation, deren Größe mit der der Monozyten übereinstimmt. Vakuolen werden in 8 % und Glanzkörner in 7 % dieser "Blasten" gesehen.

4. Myeloblasten

Die Myeloblasten zeigen in einem unterschiedlichen Prozentsatz eine sudanophile Granulation in den einzelnen Präparaten. Die Granula besitzen die Größe II und färben sich hellbraun bis braun an. Bei dem Plamocytom (Fall 18) waren für die Beurteilung zu wenig Myeloblasten vorhanden.

% der Zellen mit	Granula	mit Vakuolen	mit Glanzkörnern
Normal	11	5	5
Blutungsanämien	1	5	2
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	0	13	0
sideroachrestische Anämie	0	0	8
Panmyelopathie (Fall 7)	0	22	2
Panmyelopathie (Fall 8)	10	0	5
Leberparenchymschäden	9,3	10	2
Leberparenchymschaden (Fall 13)	23	3	0
Infektanämie (Fall 14)	0	0	0
Infektanämie (Fall 15)	20	5	23
Infektanämie (Fall 16)	0	12	0
infektiöse Hepatitis	30	8	0
Monozyten-Leukämie	24	14	12
Myeloblasten-Leukämie	8	11	3
Mittelwert	9,7	7,7	4,4

Tabelle 6: Prozentualer Anteil der granula-, vakuolen- und glanzkornhaltigen Myeloblasten in den untersuchten Originalpräparaten

Die höchsten Anteile der granulahaltigen Myeloblasten werden bei dem Leberparenchymschaden (Fall 13), der Infektanämie (Fall 15), der infektiösen Hepatitis und der Monozyten-Leukämie gesehen, wobei bei den ersten beiden Fällen die Granulopoese im Punktat eine toxische Granulation zeigte.
Die Myeloblasten der Myeloblasten-Leukämie unterscheiden sich bei der Anfärbung mit Sudanschwarz B nicht wesentlich von den normalen Myeloblasten.

5. Erythroblasten und Erythrozyten

Die Proerythroblasten, die basophilen und polychromatischen Erythroblasten und die Erythrozyten sind sudanophob. Die in einigen Zellen beobachteten sudanophilen Strukturen beruhen wahrscheinlich auf einer Verunreinigung. Die Angaben der vakuolen- und glanzkornhaltigen Zellen rekrutieren sich aus den ausgewerteten Proerythroblasten, den basophilen und polychromatischen Erythroblasten. Bei den Erythrozyten werden wie in den reifen Erythroblasten keine Vakuolen und Glanzkörner beobachtet.

	% der Zellen mit Vakuolen	% der Zellen mit Glanzkörnern
Normal	3	9
Blutungsanämien	5	3
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	7	0
sideroachrestische Anämie	3	0
Panmyelopathien	5	0
Leberparenchymschäden	12	4
Infektanämien	4	3
infektiöse Hepatitis	0	0
Plasmocytom	0	0
Monozyten-Leukämie	4	4
Myeloblasten-Leukämie	14	12
Mittelwert	5,3	3,2

Tabelle 7: Prozentualer Anteil der vakuolen- und der glanzkornhaltigen Erythroblasten in den untersuchten Originalpräparaten

Die Erythroblasten bei der Myeloblasten-Leukämie und den Leberparenchymschäden zeigen besonders viele Vakuolen und Glanzkörner, während die Myeloblasten der gleichen Fälle diese Erhöhung nicht aufweisen.

6. Lymphozyten

Die Lymphozyten lassen sich nicht mit Sudanschwarz B anfärben. Eine kleine einzelne Vakuole wird in 2,2 % und ein kleines perinukleär gelegenes Glanzkorn der Größe II wird in 5,1 % aller ausgewerteten Lymphozyten gesehen.

7. Plasmazellen

Bei den Plasmazellen wird nur bei der Panmyelopathie (Fall 8) und beim Plasmocytom in 3- und 5 % der Zellen eine sudanophile Granulation der Granulagröße I beobachtet.

	% der Zellen mit Vakuolen	% der Zellen mit Glanzkörnern
Normal	41	13
Blutungsanämien	18	5
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	74	0
sideroachrestische Anämie	20	4
Panmyelopathien	42	14
Leberparenchymschäden	45	6,5
Infektanämien	15	16,5
infektiöse Hepatitis	43	3
Plasmocytom	5	4
Monozyten-Leukämie	10	12
Myeloblasten-Leukämie	31	3
Mittelwert	31,3	7,4

Tabelle 8: Prozentualer Anteil der vakuolen- und glanzkornhaltigen Plasmazellen in den untersuchten Originalpräparaten

IV.b) Ergebnisse der Kulturversuche

1. Neutrophile Zellen

a) Blutungsanämien (Fall 3-4)

		Original	24 h	48 h	72 h
Promyelozyt	(a)	2,92	2,61	2,44	1,93
Myelozyt	(b)	3,42	2,87	2,60	2,18
Metamyelozyt	(c)	3,48	3,01	2,67	2,31
Stabkerniger	(d)	3,78	3,32	2,98	2,61
Segmentkerniger	(e)	3,77	3,41	3,07	2,60
Mittelwert	(m)	3,37	3,04	2,75	2,33

Tabelle 9: Färbestufenangaben der Neutrophilen (siehe Abb. 7)

Der Abfall der Färbestufen bei den neutrophilen Granula erfolgt bei 72-stündiger Kultivierung in den einzelnen Zellarten annähernd gleichmäßig. Der Gesamtabfall beträgt im Durchschnitt 1,04.

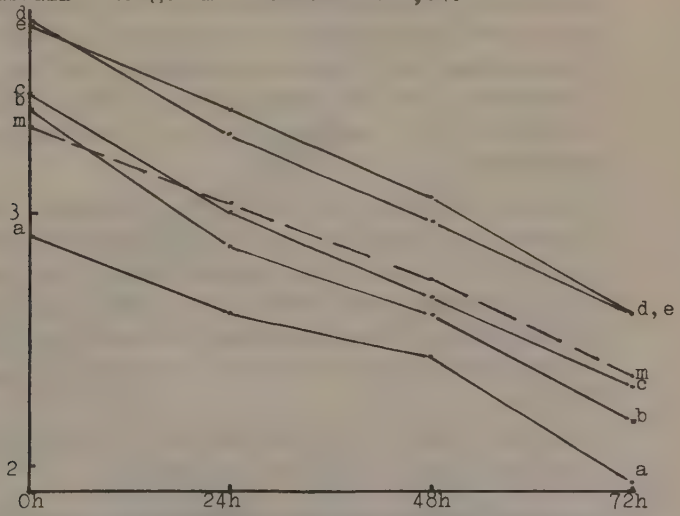


Abb. 7: Verlauf der Färbestufen der Neutrophilen in vitro

Die Granulaanzahl in den neutrophilen Zellen bleibt im Verlauf der Kultivierung annähernd konstant.

b) Blutungsanämie bei Colondiverticulitis (Fall 5)

Das Knochenmark-Material wurde 120 Stunden kultiviert. Vom Original nach 48, 72, 96 und 120 Stunden sind Ausstriche angefertigt worden.

		Original	48 h	72 h	96 h	120 h
Promyelozyt	(a)	1,41	1,67	1,30	0,58	1,36
Myelozyt	(b)	1,60	1,83	1,87	0,75	1,73
Metamyelozyt	(c)	1,88	2,18	1,90	0,40	1,72
Stabkerniger	(d)	2,33	2,43	1,97	0,85	1,68
Segmentkerniger	(e)	2,70	2,59	2,00	0,93	1,89
Mittelwert	(m)	1,98	2,14	1,81	0,70	1,68

Tabelle 10: Färbestufenangaben der Neutrophilen (siehe Abb. 8)

Die Farbintensität der neutrophilen Granula liegt im Original mit 1,98 (Mittelwert) extrem niedrig und ist nach 48 Stunden fast bei allen Zellen höher. Ein deutlicher Intensitätsabfall von 1,11 (Mittelwert) ist im 96 Stundenpräparat zu bemerken und muß als technischer Fehler angesehen werden, denn im 120 Stundenpräparat ist die Intensität bei allen Zellarten, im Mittel 1,68, fast wieder auf den 72-Stundenwert angestiegen.

Betrachtet man die in den Zellen vorhandene Granuladichte, so ergibt sich im Durchschnitt ein ähnlicher Verlauf wie bei den Färbestufenangaben. Dies ist durch die Ähnlichkeit der "O-Stufen" in den Auswertungssystemen bedingt. Der Granuladichte-Index-Durchschnittswert verändert sich im Verlauf der Kultivierung wie folgt:

2,38 (Original), 2,51 (48 h-Wert), 2,38 (72 h-Wert), 1,04 (96 h-Wert), 2,61 (120 h-Wert).

Dabei verhalten sich die einzelnen Zellarten congruent (siehe Seite 35), d.h. auch in der Kultur nimmt die Granula-Dichte vom Promyelozyten mit zunehmender Reifung der Zellen zu.

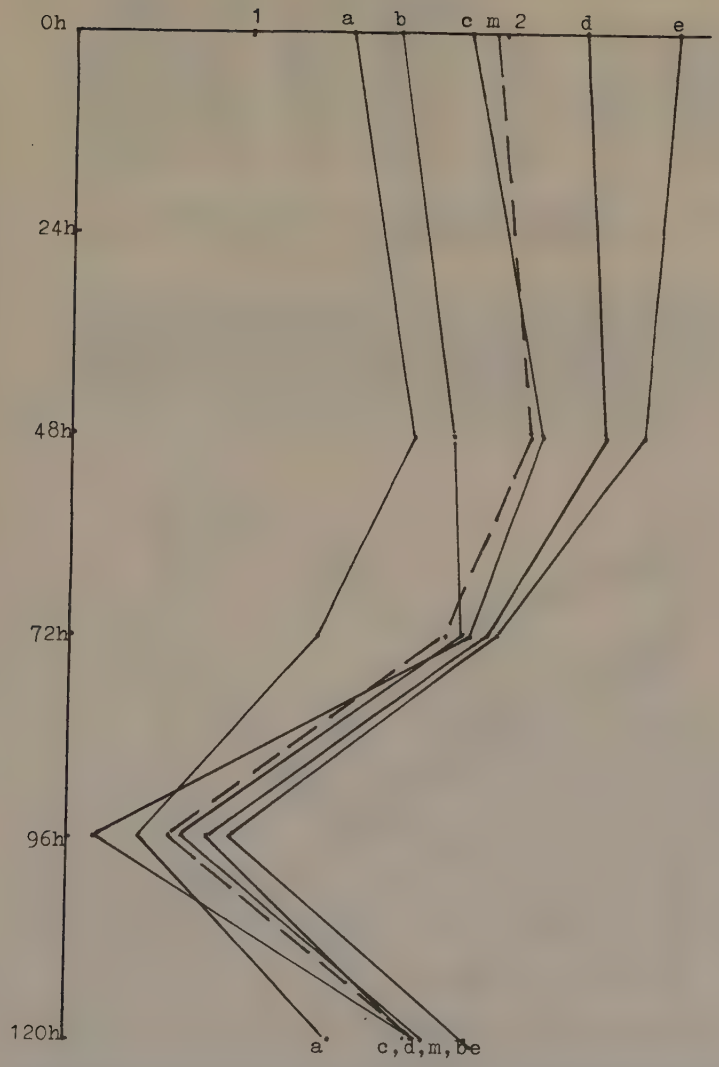


Abb. 8: Verlauf der Färbestufen der Neutrophilen in vitro

c) sideroachrestische Anämie (Fall 6)

		Original	24 h	48 h	72 h
Promyelozyt	(a)	2,99	2,59	2,10	2,14
Myelozyt	(b)	3,33	2,93	2,26	2,22
Metamyelozyt	(c)	3,30	2,95	2,33	2,37
Stabkerniger	(d)	3,68	3,45	2,61	2,68
Segmentkerniger	(e)	3,68	3,42	2,76	2,78
Mittelwert	(m)	3,39	3,07	2,41	2,44

Tabelle 11: Färbestufenangaben der Neutrophilen (siehe Abb. 9)

Die Anfärbbarkeit der neutrophilen Granula nimmt in den ersten 48 Stunden der Kultivierung deutlich ab, während nach 72 Stunden gegenüber dem 48-Stundenwert ein geringer Anstieg beobachtet wird.
Der Gesamtabfall während 72 Stunden beträgt 0,95.

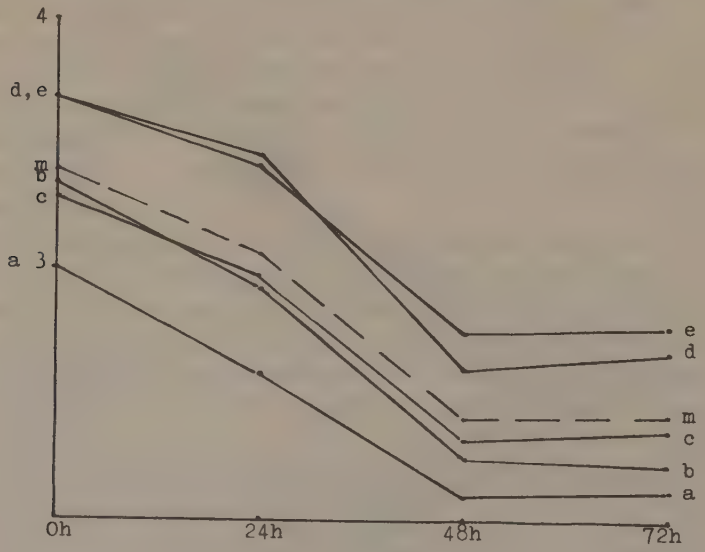


Abb. 9: Verlauf der Färbestufen der Neutrophilen in vitro

Die Granulaanzahl in den neutrophilen Zellen bleibt im Verlauf der Kultivierung annähernd konstant.

d) Panmyelopathie (Fall 7)

		Original	24 h	48 h	72 h
Promyelozyt	(a)	2,85	2,19	1,95	/
Myelozyt	(b)	2,96	2,25	2,04	1,98
Metamyelozyt	(c)	3,48	3,14	2,31	2,16
Stabkerniger	(d)	3,59	3,18	2,55	2,37
Segmentkerniger	(e)	3,63	3,26	2,71	2,41
Mittelwert	(m)	3,30	2,80	2,31	2,23

Tabelle 12: Färbestufenangaben der Neutrophilen (siehe Abb. 10)

Innerhalb der ersten 48 Stunden wird ein annähernd gleichmäßiger Intensitätsabfall der neutrophilen Granula beobachtet. Der Gesamtabfall beträgt 1,07.

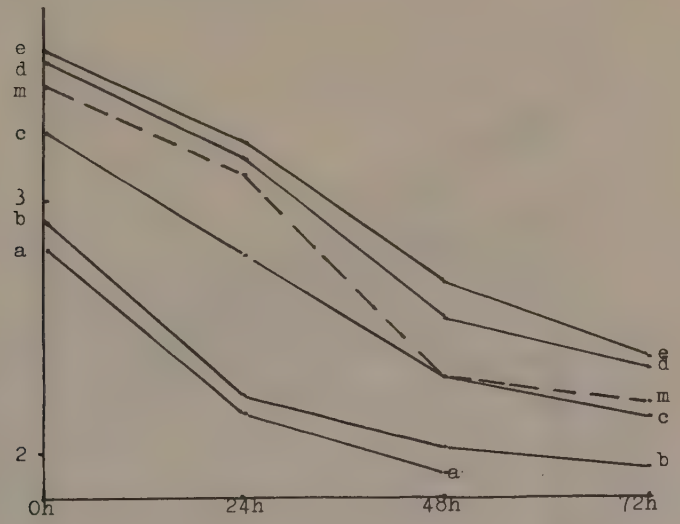


Abb. 10: Verlauf der Färbestufen der Neutrophilen in vitro

Die Granula-Dichte in den einzelnen Zellarten bleibt im Verlauf der Kultivierung annähernd konstant, wobei die in den Originalpräparaten beobachtete Korrelation der einzelnen Zellarten zueinander erhalten bleibt.
(siehe Seite 35)

e) Leberparenchymschäden (Fall 11-12)

		Original	24 h	48 h	72 h
Promyelozyt	(a)	2,58	2,80	2,10	2,14
Myelozyt	(b)	3,16	3,00	2,60	2,20
Metamyelozyt	(c)	3,26	3,10	2,79	2,32
Stabkerniger	(i)	3,63	3,24	2,97	2,71
Segmentkerniger	(e)	3,69	3,39	2,82	2,68
Mittelwert	(m)	3,26	3,11	2,65	2,40

Tabelle 13: Färbestufenangaben der Neutrophilen (siehe Abb. 11)

Bemerkenswert ist der Färbeintensitätsanstieg der Promyeolozyten-Granula im 24-Stundenpräparat, während die Granula der übrigen Zellen einen Intensitätsverlust erleiden. Der Gesamtabfall beträgt 0,86.

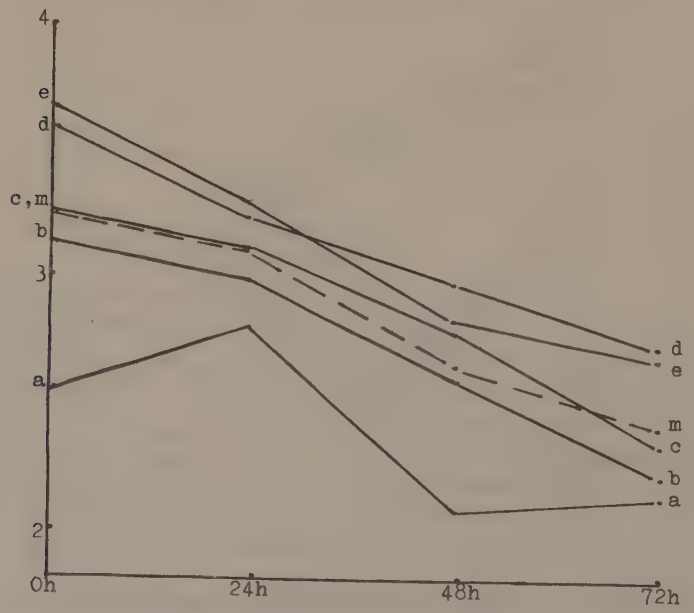


Abb. 11: Verlauf der Färbestufen der Neutrophilen in vitro

Die Granulaanzahl in den neutrophilen Zellen bleibt im Verlauf der Kultivierung annähernd konstant.

f) Infektanämien (Fall 14 und 16)

		Original	24 h	48 h	72 h
Promyelozyt	(a)	2,88	2,47	2,38	2,06
Myelozyt	(b)	3,35	2,70	2,60	2,18
Metamyelozyt	(c)	3,63	2,76	2,70	2,20
Stabkerniger	(d)	3,75	3,26	2,85	2,51
Segmentkerniger	(e)	3,83	3,35	3,00	2,60
Mittelwert	(m)	3,49	2,91	2,71	2,31

Tabelle 14: Färbestufenangaben der Neutrophilen (siehe Abb. 12)

In den ersten 24 Stunden der Kultivierung erfolgt der größte Intensitätsabfall. Der Gesamtabfall beträgt 1,18.

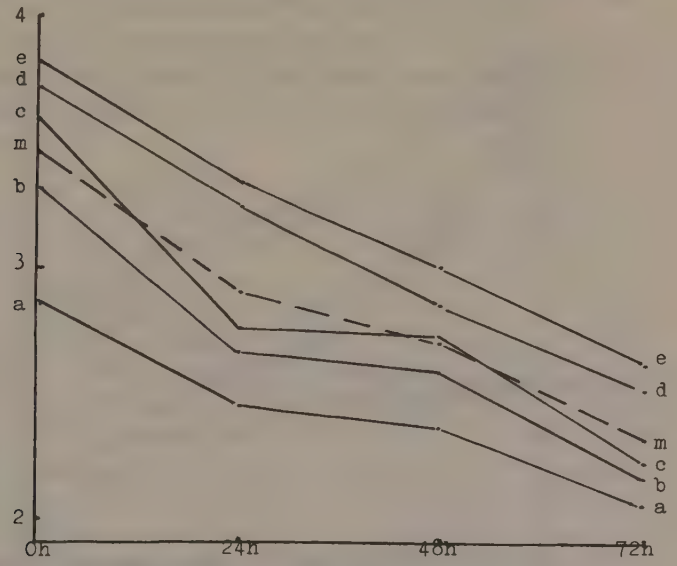


Abb. 12: Verlauf der Färbestufen der Neutrophilen in vitro

Die Granulaanzahl in den Zellen bleibt konstant.

g) Monozyten-Leukämie (Fall 19)

		Original	24 h	48 h	72 h
Promyelozyt	(a)	3,09	2,26	2,21	1,82
Myelozyt	(b)	3,51	2,55	2,38	2,01
Metamyelozyt	(c)	3,36	2,55	2,29	/
Stabkerniger	(d)	3,71	3,08	2,85	2,15
Segmentkerniger	(e)	3,73	3,17	2,91	2,31
Mittelwert	(m)	3,48	2,72	2,55	2,08

Tabelle 15: Färbestufenangaben der Neutrophilen (siehe Abb. 13)

Der Intensitätsabfall der neutrophilen Granula ist mit 0,76 (Mittelwert) in den ersten 24 Stunden der Kultivierung am ausgeprägtesten. Der Gesamtabfall ist mit 1,40 überhaupt besonders hoch.

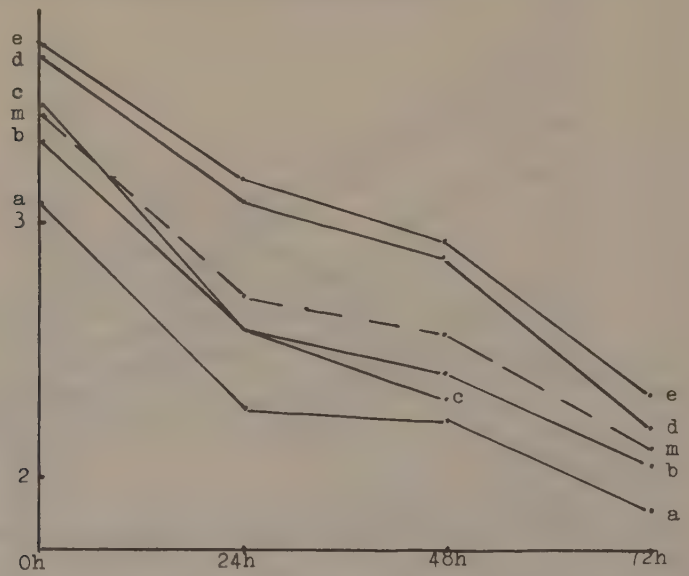


Abb. 13: Verlauf der Färbestufen der Neutrophilen in vitro

Die Granulaanzahl in den neutrophilen Zellen verringert sich im Verlauf der Kultivierung von 2,91 (Index-Durchschnittswert im Original) auf 2,81 (Index-Durchschnittswert nach 72 Stunden).

h) Myeloblasten-Leukämie (Fall 20)

		Original	24 h	48 h	72 h
Promyelozyt	(a)	2,20	2,73	2,71	2,59
Myelozyt	(b)	3,22	2,78	2,68	2,80
Metamyelozyt	(c)	3,24	3,03	2,80	2,78
Stabkerniger	(d)	3,68	2,91	2,80	2,75
Segmentkerniger	(e)	3,75	3,22	2,67	3,03
Mittelwert	(m)	3,21	2,93	2,73	2,79

Tabelle 16: Färbestufenangaben der Neutrophilen (siehe Abb. 14)

Die Promyelozyten-Granula sind im Original mit 2,20 besonders gering angefärbt. Im 24-Stundenpräparat zeigen sie eine Intensitätssteigerung von 0,53, bei weiterer Kultivierung einen leichten Intensitätsabfall und bleiben aber noch über den Ausgangswert. Die Segmentkernigen-Granula zeigen im 72-Stundenpräparat eine leichte Intensitätssteigerung von 0,36. Der Gesamtabfall beträgt im Durchschnitt 0,42.

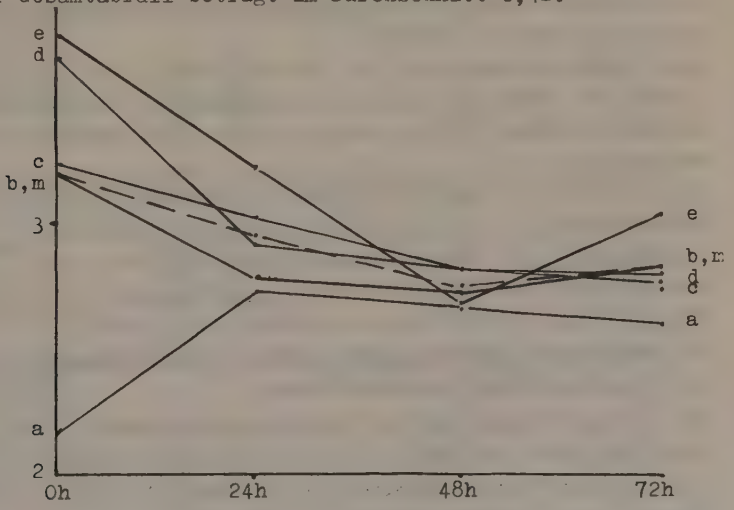


Abb. 14: Verlauf der Färbestufen der Neutrophilen in vitro

Die Granula-Dichte verändert sich in den einzelnen Zellen im Verlauf der Kultivierung nicht wesentlich. Die in den Originalpräparaten gesehene Korrelation bleibt erhalten. (siehe Seite 35)

Zusammenfassung der Kultivierungsergebnisse der Neutrophilen aller untersuchten Fälle:

Die Intensitätsabnahme der Färbung mit Sudanschwarz B bei den neutrophilen Granula ist im Verlauf der Kultivierung bei den Blutungsanämien (Abb. 7), der sideroachrestischen Anämie (Abb. 9), der Panmyelopathie (Abb. 10), den Leberparenchymschäden (Abb. 11), den Infektanämien (Abb. 12) und der Monozyten-Leukämie (Abb. 13) gleichartig, wenn auch in den einzelnen Kultivierungsstufen geringe unterschiedliche Durchschnittswerte auftreten. Der mittlere Abfall beträgt nach 72 Stunden im Durchschnitt 1,08 und der Intensitätsdurchschnittswert der neutrophilen Granula 2,30 gegenüber 3,38 im Original.
Bei der Myeloblasten-Leukämie (Abb. 14) wird bei den neutrophilen Zellen nur ein Gesamtabfall der Farbintensität von 0,42 beobachtet und der Intensitätsdurchschnittswert der neutrophilen Granula beträgt noch 2,79 nach 72 Stunden.
Bei der Blutungsanämie (Abb. 8) bei Colondiverticulitis ist einmal der niedrige Ausgangswert, zum anderen der nur geringe Intensitätsabfall bis 120 Stunden bemerkenswert.
Zu beachten ist der in 3 Fällen aufgetretene Intensitätsanstieg der Promyelozyten-Granula im 24-Stundenpräparat bei den Leberparenchymschäden (Fall 11-12) mit 0,22 und bei der Myeloblasten-Leukämie (Fall 20) mit 0,53. Nur im letzteren Fall wird im 72-Stundenpräparat ein Intensitätsanstieg von 0,36 bei den Segmentkernigen beobachtet.
Der Intensitätsanstieg der Promyelozyten-Granula im 24-Stundenpräparat könnte darauf beruhen, daß Myeloblasten zur Ausreifung kamen. Dafür spricht die Abnahme der mit feiner Granulation angefüllten Myeloblasten, die in der Literatur als "reifere" bezeichnet werden, nach 24-stündiger Kultivierung bei den

Leberparenchymschäden von 9,3 % auf 0 % und bei der Myeloblasten-Leukämie von 8 % auf 0 %.

Statistisch zeigt sich nach dem T-Test (Student) folgendes:

In den ersten 24 Stunden der Kultivierung nimmt die Farbintensität der neutrophilen Granula der einzelnen Reifestufen mit Ausnahme der Promyelozyten-Granula mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit ab. Nach weiteren 24 Stunden der Kultivierung nimmt die Intensität aller neutrophilen Granula mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit weiter ab. Bei der Auswertung der letzten Kultivierungsstufe läßt sich für die Promyelozyten-Granula statistisch kein weiterer Abfall der Farbintensität nachweisen, die Myelozyten-Granula zeigen mit 90 %iger und die übrigen Granula mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit eine weitere Intensitätsabnahme.

Mittelwert der Differenzen	0h-24h	v-Wert	t-Tabellenwert für 2P = 0,05	t-berechnet
Promyelozyt	0,18	28	2,05	1,22
Myelozyt	0,42	28	2,05	2,75
Metamyelozyt	0,32	28	2,05	2,39
Stabkerniger	0,37	28	2,05	2,18
Segmentkerniger	0,34	28	2,05	3,58

Mittelwert der Differenzen	24h-48h	v-Wert	t-Tabellenwert für 2P = 0,05	t-berechnet
Promyelozyt	0,36	19	2,09	2,60
Myelozyt	0,32	19	2,09	2,71
Metamyelozyt	0,32	19	2,09	3,02
Stabkerniger	0,37	19	2,09	5,24
Segmentkerniger	0,34	19	2,09	7,04

Mittelwert der Differenzen	48h-72h	v-Wert	t-Tabellenwert für 2P = 0,05	t-berechnet
Promyelozyt	0,19	18	2,10	1,08
Myelozyt	0,26	19	2,09	2,05
Metamyelozyt	0,33	18	2,10	2,48
Stabkerniger	0,31	19	2,09	2,65
Segmentkerniger	0,30	19	2,09	2,48

Die Granula-Anzahl bleibt im Verlauf der Kultivierung in den neutrophilen Zellen, bezogen auf die Originalpräparate, annähernd konstant. Eine Ausnahme bilden die bei der Blutungsanämie bei Colondiverticulitis (Fall 5) untersuchten Zellen , wobei die Erklärung oben schon genannt wurde.

Der Lipidgehalt der neutrophilen Zellen wird im Verlauf der Kultivierung, ausgehend von der Korrelation der Anfangsergebnisse, nur von der Intensität der Granula bestimmt.

Der Einfluß der Kultivierung auf die Anzahl der vakuolen- und glanzkornhaltigen neutrophilen Zellen zeigt sich wie folgt:

	Original	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blutungsanämien	3,4	8	10	12,5		
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	8,6	/	18	24	32	31
sideroachrestische Anämie	6	5	4	12		
Panmyelopathie	6,6	19	18	32		
Leberparenchymschäden	5,4	19,8	24	26,4		
Infektanämien	8,2	23,7	22	23,2		
Monozyten-Leukämie	6	10	19	13		
Myeloblasten-Leukämie	10,6	24	45	52		
Mittelwert	6,8	15,7	20	24,1		

Tabelle 17: Prozentualer Anteil der vakuolenhaltigen Neutrophilen

	Original	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blutungsanämien	0,2	5,1	3,2	8,3		
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	0	/	7	7	11	16
sideroachrestische Anämie	1	2	4	7		
Panmyelopathie	4,6	10	19	40		
Leberparenchymschäden	2,3	5,8	11,3	23,3		
Infektanämien	2,7	3,6	3,6	6,1		
Monozyten-Leukämie	7,2	4	1	9		
Myeloblasten-Leukämie	2,4	27	38	34		
Mittelwert	2,6	8,2	10,9	16,8		

Tabelle 18: Prozentualer Anteil der glanzkornhaltigen Neutrophilen

Der Anteil der vakuolen- und glanzkornhaltigen Neutrophilen steigt im Verlauf der Kultivierung, wenn auch nicht immer kontinuierlich, an, wobei die höchsten Anteile an vakuolen- und glanzkornhaltigen Neutrophilen nach 72-stündiger Kultivierung bei der Myeloblasten-Leukämie und der Panmyelopathie gesehen werden.

2. Eosinophile Zellen

Da auch bei der Kultivierung die Anfärbbarkeit der eosinophilen Granula der Myelozyten und der Segmentkernigen sehr ähnlich ist, werden die Färbestufen weiter als Mittelwerte beider angegeben.

	Original	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blutungsanämien	(A) 2,38	1,91	1,68	1,44		
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	(B) 2,09	/	2,07	0,79	0,07	1,60
sideroachrestische Anämie	(C) 2,31	2,01	1,74	1,66		
Panmyelopathie	(D) 2,60	2,43	1,97	1,63		
Leberparenchymschäden	(E) 2,62	2,23	1,63	0,99		
Infektanämien	(F) 2,47	1,97	1,80	1,37		
Monozyten-Leukämie	(G) 2,44	/	2,19	1,01		
Myeloblasten-Leukämie	(H) 2,77	2,52	2,30	2,35		
Mittelwert	(M) 2,48	2,18	1,92	1,41		

Tabelle 19: Färbestufenangaben der Eosinophilen (siehe Abb. 15)

Der Intensitätsabfall der Färbung bei den eosinophilen Granula in Kultur bei den Blutungsanämien (Fall 3-4 + A der Abb. 15), der sideroachrestischen Anämie (Fall 6 + C der Abb. 15) und den Infektanämien (Fall 14 und 16 + F der Abb. 15) ist sehr ähnlich. Der Gesamtabfall beträgt bei den Blutungsanämien 0,94, der sideroachrestischen Anämie 0,65 und den Infektanämien 1,10. Bei der Panmyelopathie (Fall 7 + D der Abb. 15) wird der größte Abfall im 48-Stundenpräparat gesehen. Der Gesamtabfall beträgt 0,97.

Einen annähernd gleichmäßigen Abfall erleiden die eosinophilen Granula bei den Leberparenchymschäden (Fall 11-12 + E der Abb. 15). Der Gesamtabfall bei 72-stündiger Kultivierung ist mit 1,63 sehr hoch. Bei der Monozyten-Leukämie (G der Abb. 15) und der Blutungsanämie bei Colondiverticulitis (Fall 5 + B der Abb. 15) erfolgt der größte Abfall erst im 72-Stundenpräparat. Der Gesamtabfall beträgt bei der Monozyten-Leukämie 1,43 und bei der Blutungsanämie bei Colondiverticulitis 1,30 nach 72-stündiger Kultivierung.
Bei der Myeloblasten-Leukämie (H der Abb. 15) erfolgt wie bei den Neutrophilen nur ein geringer Intensitätsabfall von 0,42.
Zusammenfassend fällt im Verlauf der Kultivierung die Intensität der eosinophilen Granula mit 1,07 (Durchschnittswert) ab. Der Gesamtabfall bei den neutrophilen Granula beträgt bei 72-stündiger Kultivierung im Durchschnitt 0,89.

Statistisch zeigt sich nach dem T-Test (Student) folgendes:

In den ersten 24 Stunden der Kultivierung nimmt die Farbintensität der eosinophilen Granula mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit, dann mit 90 %iger und in der letzten Kultivierungsstufe mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit ab.

Mittelwert der Differenzen:	Oh-24h=0,31	/24h-48h=0,24	/48h-72h=0,60
v-Wert:	27	/18	/19
t-Tabellenwert für 2P=0,05:	2,05	/ 2,10	/ 2,09
2P=0,10:	1,73	/1,73	
t-berechnet:	3,01	/1,87	/ 2,84

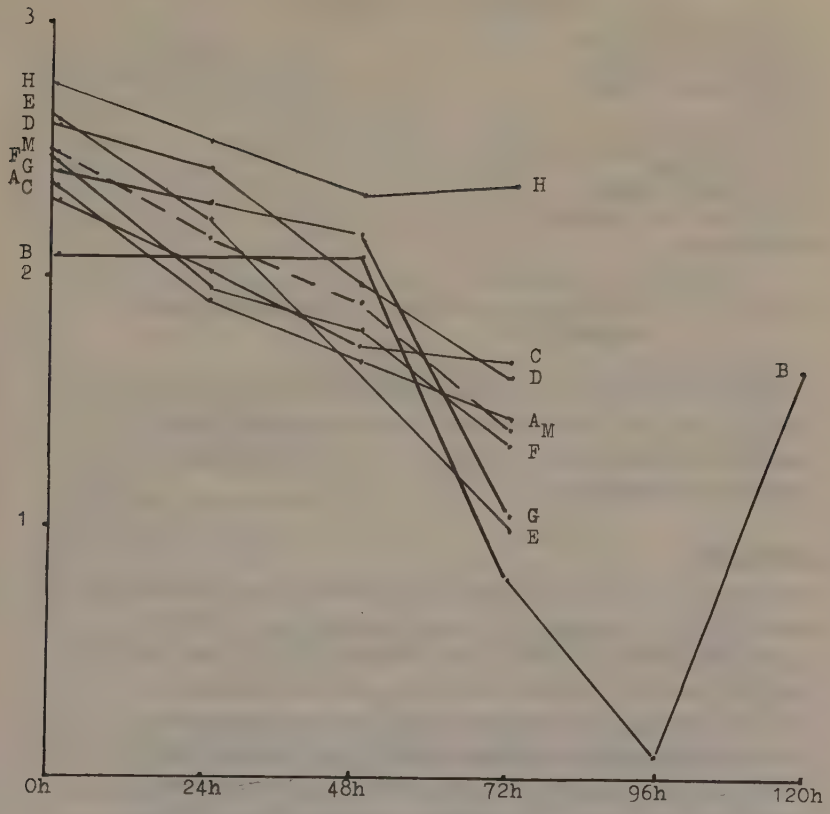


Abb. 15: Färbestufenverlauf der Eosinophilen in vitro

Wie in den Originalpräparaten weist die in den eosinophilen Zellen vorhandene Granula-Anzahl bei den untersuchten Fällen im Verlauf der Kultivierung keinen Unterschied auf. Die Granula-Anzahl bleibt im Verlauf der Kultivierung konstant. So ist der Lipidgehalt der eosinophilen Zellen nur von der Intensität der Granula abhängig.

Der Einfluß der Kultivierung auf die Anzahl der vakuolenhaltigen eosinophilen Zellen verhält sich wie folgt:

	Original	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blutungsanämien	1	2	0,5	0,5		
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	9	/	12	13	23	30
sideroachrestische Anämie	3	6	0	0		
Panmyelopathie	9	11	13	27		
Leberparenchymschäden	3	4	10	1		
Infektanämien	3,7	12	7	5,5		
Monozyten-Leukämie	0	/	4	3		
Myeloblasten-Leukämie	2	2	15	30		
Mittelwert	3,8	6,2	7,7	10		

Tabelle 20: Prozentualer Anteil der vakuolenhaltigen Eosinophilen

Die höchsten Anteile an vakuolenhaltigen Zellen werden wie bei den Neutrophilen bei der Myeloblasten-Leukämie und der Panmyelopathie nach 72-stündiger Kultivierung gesehen.

3. Monozyten

Die Monozyten zeigen in der Kultivierung im Durchschnitt eine leichte Abnahme der granulaenthaltenden Zellen. Im Durchschnitt werden in den Originalpräparaten in 98,5 %, nach 24 Stunden in 98 %, nach 48 Stunden in 97,2 % und nach 72 Stunden in 95,6 % der Monozyten eine sudanophile Granulation beobachtet. Bei der Monozyten-Leukämie zeigen die "Blasten" im Originalpräparat in 98 %, nach 24 Stunden in 94 %, nach 48 Stunden in 90 % und nach 72 Stunden in 86 % eine sudanophile Granulation. Bei der Myeloblasten-Leukämie und der Panmyelopathie waren für die Beurteilung zu wenig Monozyten vorhanden.

Bei der Blutungsanämie bei Colondiverticulitis sinkt der Anteil der granulaenthaltenden Monozyten von 100% im Original auf 92 % nach 120-stündiger Kultivierung ab.

	Original	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blutungsanämien	9	13	21	24		
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	35	/	47	30	29	25
sideroachrestische Anämie	12	13	20	22		
Leberparenchymschäden	10,5	10	23	4		
Infektanämien	14	34	31	35		
Monozyten-Leukämie	10	22	24	22		
Mittelwert	15,1	18,4	27,7	22,9		

Tabelle 21: Prozentualer Anteil der vakuolenhaltigen Monozyten

	Original	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blutungsanämien	1	7	5	7		
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	0	/	0	5	1	15
sideroachrestische Anämie	0	5	5	7		
Leberparenchymschäden	1	10	3	0		
Infektanämien	5,7	11	7,5	10		
Monozyten-Leukämie	16	6	2	17		
Mittelwert	3,9	7,8	3,7	7,7		

Tabelle 22: Prozentualer Anteil der glanzkornhaltigen Monozyten

Der Anteil der vakuolenhaltigen Monozyten nimmt im Verlauf der Kultivierung zu, während der Anteil der glanzkornhaltigen Monozyten bei den untersuchten Fällen unregelmäßig Schwankungen zeigt.

4. Myeloblasten

Die Myeloblasten einschließlich die der Myeloblasten-Leukämie sind mit einer Ausnahme in der Kultur sudanophob. Bei der sideroachrestischen Anämie (Fall 6) besitzen die Myeloblasten im Original keine, nach 24 Stunden in 7 %, nach 48 Stunden in 40 % und nach 72 Stunden in 45 % der Myeloblasten eine feine sudanophile Granulation. Bei der Monozyten-Leukämie waren für die Beurteilung zu wenig Myeloblasten vorhanden.

	Original	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blutungsanämien	5	12	19	17		
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	13	/	60	70	63	80
sideroachrestische Anämie	0	7	0	12		
Panmyelopathie	22	44	58	70		
Leberparenchymschäden	10	41	30	/		
Infektanämien	6	12,5	15	/		
Myeloblasten-Leukämie	11	68	79	84		
Mittelwert	9,6	30,8	37,3	50,6		

Tabelle 23: Prozentualer Anteil der vakuolenhaltigen Myeloblasten

	Original	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blutungsanämien	2	7	7	8		
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	0	/	2	5	3	5
sideroachrestische Anämie	8	4	0	12		
Panmyelopathie	2	12	8	7		
Leberparenchymschäden	2	15	20	/		
Infektanämien	0	5	7	/		
Myeloblasten-Leukämie	3	27	30	12		
Mittelwert	2,6	11,7	10,6	8,8		

Tabelle 24: Prozentualer Anteil der glanzkornhaltigen Myeloblasten

Die Anteile der vakuolen- und glanzkornhaltigen Myeloblasten nehmen in vitro deutlich zu. Die Myeloblasten der Myeloblasten-Leukämie zeigen gegenüber den in diesem Fall untersuchten neutrophilen und eosinophilen Zellen eine stärkere Zunahme von Vakuolen.

5. Erythroblasten und Erythrozyten

Die Proerythroblasten und die basophilen Erythroblasten sind auch in der Kultur sudanophob. Die polychromatischen Erythroblasten und die Erythrozyten zeigen mit zunehmender Kultivierung eine schwache diffuse Sudanophilie des Zytoplasmas, die sich nach 120-stündiger Kultivierung gegenüber der 72-stündigen Kultivierung nicht weiter verstärkt.
Bei der Monozyten- und der Myeloblasten-Leukämie waren für die Beurteilung in der Kultur zu wenig Proerythroblasten vorhanden.

	Original	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blutungsanämien	5	16	21	20		
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	7	/	38	43	38	43
sideroachrestische Anämie	3	10	14	17		
Panmyelopathie	5	16	31	18		
Leberparenchymschäden	12	32	24	27		
Infektanämien	4	13	17	21		
Mittelwert	6	15,4	24,1	24,3		

Tabelle 25: Prozentualer Anteil der vakuolenhaltigen Erythroblasten

	Original	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blutungsanämien	3	4	3	10		
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	0	/	4	21	7	3
sideroachrestische Anämie	0	2	5	3		
Panmyelopathie	0	13	8,5	10		
Leberparenchymschäden	4	14	17	22		
Infektanämien	3	10	12	16		
Mittelwert	1,7	8,6	8,3	13,7		

Tabelle 26: Prozentualer Anteil der glanzkornhaltigen Erythroblasten

Sowohl die vakuolenhaltigen wie auch die glanzkornhaltigen Erythroblasten nehmen in vitro zu.
Die Angaben der vakuolen- und glanzkornhaltigen Erythroblasten rekrutieren sich aus den ausgewerteten Proerythroblasten, den basophilen und polychromatischen Erythroblasten. Bei den Erythrozyten und den reifen Erythroblasten werden in der Kultur keine Vakuolen oder Glanzkörner beobachtet.

6. Lymphozyten

Die sudanophoben Lymphozyten zeigen im Original in 2,2 %, nach 24 Stunden in 6,8 %, nach 48 Stunden in 13 % und nach 72 Stunden in 20,6 % eine kleine einzelne Vakuole. Der Anteil der Lymphozyten, die ein kleines Glanzkorn besitzen, beträgt im Original 5,1 %, nach 24 Stunden 8,4 %, nach 48 Stunden 12,4 % und nach 72 Stunden 14,3 %.

7. Plasmazellen

In der Kultur werden in den Plasmazellen sudanophile, unregelmäßig begrenzte Strukturen, die in den Originalpräparaten nur in wenigen Zellen gesehen werden, in einer größeren Anzahl beobachtet. Eine sudanophile Granulation wird nicht gesehen.
Bei der Monozyten-Leukämie waren in der Kultur zu wenig Plasmazellen zur Beurteilung vorhanden.

	Original	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blutungsanämien	5	10	18	21		
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	0	/	24	17	10	6
sideroachrestische Anämie	0	0	5	15		
Panmyelopathie	2	5	20	55		
Leberparenchymschäden	3	12	49	53		
Infektanämien	0	8	15	19		
Myeloblasten-Leukämie	3	22	31	18		
Mittelwert	1,9	9,5	23,1	27,3		

Tabelle 27: Prozentualer Anteil der Plasmazellen mit sudanophilen Strukturen

	Original	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blutungsanämien	18	31	52	63		
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	74	/	81	90	72	80
sideroachrestische Anämie	20	22	27	38		
Panmyelopathie	42	59	73	74		
Leberparenchymschäden	41,2	46	75	81		
Infektanämien	15	18	32	41		
Myeloblasten-Leukämie	31	65	75	73		
Mittelwert	34,4	40,1	59,3	75,7		

Tabelle 28: Prozentualer Anteil der vakuolenhaltigen Plasmazellen

	Original	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blutungsanämien	5	12	18	24		
Blutungsanämie bei Colondiverticulitis	0	/	3	11	6	2
sideroachrestische Anämie	4	8	5	14		
Panmyelopathie	14	12	0	17		
Leberparenchymschäden	6,5	17	24	27		
Infektanämien	16,5	20	5	12		
Myeloblasten-Leukämie	3	16	20	18		
Mittelwert	7	14,2	10,7	17,6		

Tabelle 29: Prozentualer Anteil der glanzkornhaltigen Plasmazellen

Vakuolen, Glanzkörner und sudanophile Strukturen nehmen bei den Plasmazellen in vitro kontinuierlich zu.

IV.c) Zusammenfassung der Ergebnisse

Durch Sudanschwarz B werden in den Originalpräparaten folgende Strukturen zur Darstellung gebracht:

a) Granula der Größe III in den eosinophilen Zellen,
Granula der Größe II in den neutrophilen Zellen und in einem Teil der Myeloblasten
Granula der Größe I in den "Blasten" der Monozyten-Leukämie, Monozyten und in 2 Fällen in einem geringen Teil der Plasmazellen

b) Glanzkörner in den neutrophilen Zellen, Myeloblasten, Monzyten, "Blasten" der Monozyten-Leukämie, Proerythroblasten, basophilen und polychromatischen Erythroblasten und Plasmazellen,

c) ein ungefähr der Granulagröße II entsprechendes Glanzkorn in einem Teil der Lymphozyten,

d) Vakuolen als Negativdarstellung in allen untersuchten Zellen mit Ausnahme der reifen Erythroblasten und der Erythrozyten.

Die Farbintensität der in den neutrophilen Zellen dargestellten Granula nimmt vom Promyelozyten mit zunehmender Reife der Zellen zu von 2,73 bis 3,67 im Mittel.Bei der Ausreifung der eosinophilen Zellen wird diese Intensitätszunahme nicht festgestellt (im Mittel 2,49)

Die Granula-Dichte der neutrophilen Zellen ist nur in 3 Fällen gegenüber der Norm vermindert.Während bei einem Fall mit Panmyelopathie und bei der Myeloblasten-Leukämie die Granula-Dichte vom Promyelozyten mit zunehmender Reifung abnahm,erfolgte bei dem einen Fall mit Blutungsanämie eine Zunahme.

Bei der Korrelation der Ergebnisse der Granulaanfärbung und der Granula-Dichte ergibt sich für die neutrophilen Zellen ein gegenüber der Norm verminderter Lipidgehalt bei je einem Fall von Blutungsanämie (Fall 5),mit Panmyelopathie (Fall 7),infektiöser Hepatitis (Fall 17) und Myeloblasten-Leukämie (Fall 20). Keine Veränderung im Lipidgehalt der neutrophilen Zellen zu den beiden untersuchten Normalfällen (Fall 1-2) zeigen die Blutungsanämien (Fall 3-4), die sideroachrestische Anämie (Fall 6),die Infektanämien (Fall 14-16),ein Fall mit Panmyelopathie (Fall 8),die Leberparenchymschäden (Fall 9-13),das Plasmocytom (Fall 18) und die Monozyten-Leukämie (Fall 19).

In den eosinophilen Zellen ist eine unterschiedliche Granulaanzahl bei den untersuchten Fällen nicht beobachtet worden.Die Farbintensität der in den eosinophilen Zellen dargestellten Granula ist bei einem Fall mit Blutungsanämie (Fall 5) und bei der infektiösen Hepatitis (Fall 17) gegenüber der Norm vermindert.

Die Monozyten besitzen in der Mehrzahl der Fälle in allen Zellen eine feine sudanophile Granulation im Durchschnitt von 98,5%.Abhängigkeiten von den untersuchten Fällen konnten nicht gefunden werden.Die "Blasten" der Monozyten-Leukämie zeigen in 98% eine sudanophile Granulation.

Bei den Myeloblasten werden die höchsten Anteile an granulaenthaltenden Myeloblasten bei einem Fall mit Leberparenchymschaden (Fall 13),einem Fall mit Infektanämie (Fall 15),einem Fall mit infektiöser Hepatitis (Fall 17) und einem Fall mit Monozyten-Leukämie (Fall 19) gesehen.Die Myeloblasten der Myeloblasten-Leukämie unterscheiden sich nicht wesentlich von den normalen Myeloblasten.

Die Erythrozyten und die Erythroblasten sind sudanophob,gleichfalls die Lymphozyten.

Bei den Plasmazellen wird nur in 2 Fällen (Fall 8 und 18) in einem geringen Teil der Plasmazellen eine sudanophile Granulation beobachtet.

Vakuolen werden besonders häufig in den Knochenmarkzellen von einem Fall mit Blutungsanämie (Fall 5), der Panmyelopathie (Fall 7-8) und der Myeloblasten-Leukämie (Fall 20) gesehen.

Glanzkörner sind in den Zellen der Monozyten-Leukämie (Fall 19) prozentual vermehrt vorhanden.

Prozentual am häufigsten werden Vakuolen und Glanzkörner in den Plasmazellen beobachtet.

Bei der Kultivierung nimmt der Lipidgehalt - ausgewertet an der Farbintensität der Granula - der neutrophilen und der eosinophilen Zellarten, wenn auch in den einzelnen Präparaten z.T. unterschiedlich, mit fortschreitender Kultivierung immer mehr ab. Dies ließ sich für die einzelnen Zellarten statistisch bestätigen. Der Intensitätsverlust verläuft bei den neutrophilen Zellarten annähernd gleichmäßig, wobei die in den Originalpräparaten aufgestellte Korrelation zwischen den einzelnen Zellarten erhalten blieb. Eine Reduktion auf Null wird in keinem der ausgewerteten Präparate nach 72-stündiger Kultivierung festgestellt.

Im Verlauf der Kultivierung ist die Intensitätsabnahme der in den neutrophilen Zellen dargestellten Granula bei den Blutungsanämien (Fall 3-4), der sideroachrestischen Anämie (Fall 6), der Panmyelopathie (Fall 7), den Leberparenchymschäden (Fall 11-12), den Infektanämien (Fall 14 und 16) und der Monozyten-Leukämie (Fall 19) ähnlich. Bei der Blutungsanämie bei Colondiverticulitis (Fall 5) und bei der Myeloblasten-Leukämie wird nur ein geringer Intensitätsverlust beobachtet.

Bei den neutrophilen Zellarten wird ein Farbintensitätsverlust im Durchschnitt von 0,89 gesehen (siehe Tabelle 30), wobei der größte Abfall im 48-Stundenpräparat erfolgt.

	Original	24 h	48 h	72 h
Neutrophiler Promyelozyt	2,73	2,55	2,19	2,00
Neutrophiler Myelozyt	3,18	2,76	2,44	2,18
Neutrophiler Metamyelozyt	3,26	2,94	2,62	2,29
Neutrophiler Stabkerniger	3,60	3,23	2,86	2,55
Neutrophiler Segmentkerniger	3,67	3,33	2,99	2,69
Mittelwert	3,19	2,94	2,53	2,30
Eosinophiler Myelozyt/ Segmentkerniger	2,48	2,18	1,92	1,41

Tabelle 30: Durchschnittlicher Färbestufenwert der neutrophilen Zellarten und der Eosinophilen im Verlauf der Kultivierung

Ähnlichkeiten des Intensitätsabfalles bei den in den eosinophilen Zellen dargestellten Granula ergibt sich bei den Blutungsanämien (Fall 3-4),der sideroachrestischen Anämie (Fall 6) und den Infektanämien (Fall 14 und 16).Ein nur geringer Intensitätsverlust wird bei der Myeloblasten-Leukämie (Fall 20) beobachtet.
Bei den eosinophilen Zellen beträgt der Farbintensitätsverlust der Granula im Durchschnitt 1,07 (siehe Tabelle 30).

Die Granula-Dichte der neutrophilen und eosinophilen Zellen ändert sich im Verlauf der Kultivierung,ausgehend von den in den Originalpräparaten gemachten Beobachtungen,nicht wesentlich.Eine Ausnahme bildet die bei der Blutungsanämie (Fall 5) gesehene Schwankung.

Der Anteil der granulahaltigen Monozyten nimmt im Verlauf der 72-stündigen Kultivierung nur gering von 98,5 % auf 95,6 % und der Anteil der granulahaltigen "Blasten" der Monozyten-Leukämie von 98 % auf 86 % ab.

In der Kultur sind mit einer Ausnahme (sideroachrestische Anämie,Fall 6) alle Myeloblasten sudanophob.

Während die Proerythroblasten und die basophilen Erythroblasten,wie auch die Lymphozyten,in der Kultur sudanophob bleiben,wird bei den polychromatischen und reifen Erythroblasten und den Erythrozyten mit zunehmender Kultivierung eine schwache diffuse Sudanophilie des Zytoplasmas beobachtet.

Die Plasmazellen zeigen im Verlauf der Kultivierung zunehmend sudanophile unregelmäßig begrenzte Strukturen im Zytoplasma.Eine sudanophile Granulation wird nicht gesehen.

Der Anteil der vakuolen- und glanzkornhaltigen Zellen steigt im Verlauf der Kultivierung bei allen untersuchten Zellen mit Ausnahme der reifen Erythroblasten und der Erythrozyten an (siehe Tabelle 31-32).

	Original	24 h	48 h	72 h
Neutrophile Zellen	3,4	8,2	10,9	16,8
Monozyten	6,3	7,8	3,7	7,7
Myeloblasten	4,4	11,7	10,6	8,8
Erythroblasten	3,2	8,6	8,3	13,7
Lymphozyten	5,1	8,4	12,4	14,3
Plasmazellen	7,4	14,2	10,7	17,6

Tabelle 31: Durchschnittlicher Anteil der glanzkornhaltigen Zellen der untersuchten Zellen im Verlauf der Kultivierung

	Original	24 h	48 h	72 h
Neutrophile Zellen	6,8	17,7	20	24,1
Eosinophile Zellen	3,8	6,2	7,7	10
Monozyten	15,1	18,4	27,7	22,9
Myeloblasten	9,6	30,8	37,3	50,6
Erythroblasten	6	15,4	24,1	24,3
Lymphozyten	2,2	6,8	13	20,6
Plasmazellen	34,4	40,1	59,3	75,7

Tabelle 32: Durchschnittlicher Anteil der vakuolenhaltigen Zellen der untersuchten Zellen im Verlauf der Kultivierung

Prozentual werden auch in der Kultur Vakuolen und Glanzkörner am häufigsten in den Plasmazellen beobachtet.
Wie bei den Originalpräparaten werden nach 72-stündiger Kultivierung Vakuolen besonders häufig in den Zellen der Myeloblasten-Leukämie (Fall 20), der Panmyelopathie (Fall 7) und in einem Fall mit Blutungsanämie (Fall 5) gesehen.

Glanzkörner sind nach 72-stündiger Kultivierung besonders in den Zellen der Myeloblasten-Leukämie, der Panmyelopathie und den Leberparenchymschäden (Fall 11-12) prozentual vermehrt vorhanden.

V. Diskussion

Lipide lassen sich in den Blut- und Knochenmarkzellen mit der Sudanschwarz B-Färbung,wie sie von SHEEHAN und STOREY (1947) speziell für haematologische Belange angegeben wird,darstellen.Die Frage, ob Sudanophilie auch wirklich die Anwesenheit von Lipiden beweist,wird heute im positiven Sinne beantwortet (18,37).Einschränkend ist aber zu sagen,daß Sudanschwarz B auch nicht lipides Material u.U.zur Darstellung bringen kann (26,49).
Bei der Durchsicht der Literatur wird eine große Anzahl der Zellen als sudanophob beschrieben,obwohl doch Lipide obligate Zell-Bestandteile sind.So werden mit dieser Färbung nicht alle Zellipide erfaßt.Erst durch die Vorbehandlung der Ausstriche kann MAURI (1963) mit Sudanschwarz B in allen Zellen der blutbildenden Systeme Lipide nachweisen.Bei den in den Zellen durch Sudanschwarz B dargestellten Lipiden handelt es sich oftmals ,wenn Neutralfette ausgeschlossen werden können,um Phospholipide (43).
So finden LAMBERS und EGGSTEIN 1959 bei der biochemischen Analyse der Leukozyten-Lipide,daß Phospholipide den Hauptbestandteil der Lipide ausmachen, während Neutralfette und Cholesterin nur in geringer Menge vorhanden sind.
Die sudanophile Granulation der neutrophilen und eosinophilen Zellen entspricht nach Ansicht von MAURI (1963) im Gegensatz zu POLOSA,DI SALVO (1953) und WACHSTEIN (1955) der spezifischen Granulation dieser Zellen.Es sind in isolierten Leukozyten-Granula neben Proteinen und Fermenten auch Phospholipide nachgewiesen worden (13).Diese liegen in den Granula als Lipoproteide vor,was die nicht "orthodoxe" Löslichkeit mit den üblichen Lösungsmitteln erklärt.Auf die Probleme der"maskierten Lipide"und der "sudanofesten Granula" wollen wir nur hinweisen.

Diskussionsbeiträge hierzu finden sich bei MAURI (1963),BEISSEL (1969),u.a..Welche Funktion die spezifische lipidreiche Granulation der Granulozyten ausübt,ist noch nicht restlos geklärt.
In den Leukozyten sind neben Esterasen und Lipasen auch Fettsynthetasen nachgewiesen worden (37).
AUER und CASTENS (1967) finden beim Morbus Hodgkin eine Aktivitätssteigerung und bei der chronischen Myelose und Lymphadenose eine Aktivitätsverminderung der Leukozyten-Fettsynthetase.O'DONNEL (nach PEZOLD, 1961) glaubt dagegen an keine Fettsäure- und Cholesterinsynthese in den Leukozyten.
Abgesehen von der autochthonen Lipidsynthese hängt der Lipidspiegel der Leukozyten auch von der Lipidzusammensetzung des äußeren Milieus ab.Eine Verminderung des Fettgehaltes findet JOCHIMS (1959) in den Granulozyten von hungernden Menschen und sieht darin einen Beweis der aktiven Rolle der Granulozyten beim Fettransport.POLOSA,CASALO und DI SALVO (1953) finden keine Abhängigkeit zwischen der sudanophilen Granulaanzahl in den Granulozyten und dem Blut-Cholesterinspiegel bei diabetogenen Stoffwechsellagen.
Veränderungen in der Sudanophilie der Blut- und Knochenmarkzellen werden bei Infekten,bei der chronischen myeloischen Leukämie,bei der Basophilen-Leukämie und bei den klassischen Lipidosen gesehen (2,31,37,42,57, 62).
Um quantitative Unterschiede besser objektivieren zu können sind von STORTI und PERUGINI (1949,1951) und HAYHOE (1964) Schätzungsmethoden angegeben worden,deren Parameter für den Lipidgehalt der Zellen die in den Zellen vorhandene sudanophile Granula-Anzahl ist.
HERTL (1959) dagegen geht bei seinen Untersuchungen von der Intensität der Granula-Anfärbung aus und vernachläßigt die in den Zellen vorhandene Granula-Anzahl.

Bei unseren Untersuchungen sind beide Auswertungsarten berücksichtigt worden.
Die Angaben, die über die prozentuale Verteilung der Glanzkörner in den einzelnen Zellarten gemacht werden, bedürfen großer Vorsicht, da eine phasenkontrastmikroskopische Kontrolle, wie sie u.a. von RIND und OTTO (1954) und BEISSEL (1969) zur eindeutigen Beurteilung gefordert wird, nicht erfolgte.

a) Originalausstriche

Der Lipidgehalt nimmt in unseren Originalpräparaten bei den einzelnen Zellarten folgendermaßen ab:

Neutrophiler Segmentkerniger/Stabkerniger - neutrophiler Metamyelozyt/Myelozyt - neutrophiler Promyelozyt - eosinophile Reihe.

Der unterschiedliche Lipidgehalt wird im wesentlichen durch den Lipidgehalt der Granula - ausgedrückt durch die Farbintensität - und nicht durch die in den Zellen vorhandene Granula-Anzahl bestimmt.
Damit können wir für die neutrophilen Granulozyten die von SCHWANDT, BIRK und EHRHARDT (1968) beobachtete Korrelation zwischen dem Reifungsgrad und der Lipidsynthese bei den Granulozyten bestätigen. Für die eosinophilen Zellen können wir dagegen diese Abhängigkeit nicht darstellen.

Bei der Auswertung der in den oben genannten Zellen vorhandenen Granula-Anzahl kommen wir zu dem Ergebnis, daß die Granula-Anzahl bei der mikroskopischen Betrachtung in den einzelnen Zellarten gleichartig ist. Nur durch den kleineren Zelldurchmesser bedingt erscheint die Granula-Anzahl durch dichtere Lagerung in den "reiferen" Zellen vermehrt zu sein.
Eine Ausnahme bildet die in 3 Fällen beobachtete unterschiedliche Granula-Dichte bei den neutrophilen Zellarten.

Die eosinophilen Granula lassen sich nicht vollständig, sondern nur in einem Randwall anfärben. Dies läßt sich als Folge der veränderten Lösungsmitteleigenschaften der von BESSIS (1954) elektronenmikroskopisch gesehenen zentralen kristallinen Phasen deuten.
Die Farbintensität des Randwalles ist nach unserer, HERTLs (1959), u.a. Färbetechniken geringer als die der neutrophilen Granula.

Bei den verschiedenen von uns untersuchten Erkrankungen ist der Lipidgehalt bei den oben genannten Zellen z.T. unterschiedlich:
Zwei unserer Patienten (Fall 1-2) konnten wir vom Blutbild und Knochemarkbefund als Normalfälle ansehen. Der im Fall 1 seit 4 Jahren und auch der im Fall 11 seit längerem bestehende Diabetes mellitus zeigte keinen Einfluß im Vergleich zum Fall 2 - auf den Lipidgehalt der neutrophilen und eosinophilen Zellen, so daß die Ergebnisse beider als Mittelwerte angegeben werden konnten.
POLOSA, CASALO und DI SALVO (1953) konnten ebenfalls bei diabetogenen Stoffwechsellagen keine Veränderung im Lipidgehalt der Granulozyten feststellen, obwohl es ja bekanntlich beim Diabetes mellitus u.a. zu einer Fettstoffwechselstörung kommt, die sich in einer Hyperlipidämie äußert.
STORTI und PERUGINI (1951) beobachten bei den meisten ihrer untersuchten Infektionskrankheiten eine Lipidverminderung in den neutrophilen und z.T. in den eosinophilen Zellen. WACHSTEIN (1955) und MAURI (1963) bestätigen diesen Befund. Eine Erklärung dafür kann die von COHN und HIRSCH (1960) beobachtete Degranulation in menschlichen polymorphkernigen Leukozyten nach Aufnahme von Mikroorganismen sein. Das granuläre System spielt nach ihrer Auffassung eine zentrale Rolle in der Zerstörung der in den Körper eingedrungenen Mikroorganismen.

ELSBACH (50) findet dagegen bei der biochemischen Analyse keinen Unterschied im Lipidgehalt von ruhenden und phagozytierenden Leukozyten, wobei einschränkend zu bemerken ist, daß die Befunde beim Kaninchen erhoben werden. Diese Diskrepanz könnte darauf beruhen, daß durch Auflösung der Granula die in und an ihnen "fixierten" Lipide durch Sudanschwarz B nicht mehr darstellbar sind und bedarf weiterer Klärung. LAMBERS und EGGSTEIN (1959) sehen bei ihren histochemischen Untersuchungen keinen Unterschied im Fettgehalt von Granulozyten bei einer entzündlich-leukozytären Reaktion.

Bei der infektiösen Hepatitis (Fall 17), bei einem Fall mit Panmyelopathie (Fall 7), bei welchem zur Zeit der Sternalpunktion eine Bronchopneumonie bestand und, bei einem Fall mit Blutungsanämie (Fall 5), bei welchem zur Zeit der Sternalpunktion eine Colondiverticulitis bestand, muß die Infektion als Ursache der Lipidverminderung der neutrophilen Zellen angesehen werden.
STORTI und PERUGINI (1951) sehen in einem Fall mit einer Virusinfektion gleichfalls eine Lipidverminderung der neutrophilen Zellen.

Wir sehen dagegen keine Lipidverminderung der neutrophilen Zellen bei der sideroachrestischen Anämie (Fall 6), bei welcher zur Zeit der Sternalpunktion ein Harnwegsinfekt bestand, bei dem anderen Fall mit Panmyelopathie (Fall 8), bei welchem septische Temperaturen bestanden, bei einem Fall mit Infektanämie (Fall 14), bei welchem eine chronische Pyelonephritis bestand, und bei der Monozyten-Leukämie (Fall 19), bei der eine käsige Lymphknotentuberkulose und eine chronische Pyelonephritis bestanden.

Zum letzteren Fall ist zu sagen, daß STORTI und PERUGINI (1951) ebenfalls in zwei von acht untersuchten Tuberkulose-Fällen einen normalen Lipidgehalt in den Granulozyten fanden. Der normale Lipidgehalt in den Granulozyten in einem Fall mit Leberparenchymschaden (Fall 13), bei dem eine Cholecystitis bestand, und in zwei Fällen mit Infektanämie (Fall 15-16) läßt sich dadurch erklären, daß die Infektionen erfolgreich behandelt worden sind. Damit stimmen wir mit den Beobachtungen von STORTI und PERUGINI (1951) überein.
Die Lipidverminderung in den neutrophilen Granulozyten bei normalen Lipidgehalt in den eosinophilen Zellen bei einem Fall mit Myeloblasten-Leukämie (Fall 20) steht in Übereinstimmung mit den meisten in der Literatur angegebenen Ergebnissen (18,19,21,32,42,50 57,62). Im Gegensatz sehen STORTI und MAURI (1963) bei den chronischen Myelosen mit Sudanschwarz B keine von der Norm abweichenden Ergebnisse in den Granulozyten.
In Übereinstimmung mit STORTI und PERUGINI (1951) und HAYHOE (1953) sehen wir keine Lipidveränderung in den Granulozyten bei den Blutungsanämien (Fall 3-4) und der sideroachrestischen Anämie (Fall 6). LAMBERS (1962) sieht in den Rest-Leukozyten bei Panmyelopathien und HAYHOE (1953) in den Rest-Leukozyten bei der Monozyten-Leukämie keine Lipidveränderung.

Die Monozyten zeigen in den von uns untersuchten Fällen einschließlich der Leukämien keine unterschiedlichen Ergebnisse. In der Literatur sind ebenfalls keine Lipidveränderungen beschrieben worden. Wir können mit unserer Färbetechnik in fast allen Monozyten wie auch LEDER (1967) u.a. eine feine sudanophile Granulation darstellen.

Die "Blasten" der Monozyten-Leukämie (Fall 19) besitzen gleichfalls eine sudanophile Granulation. Eine stärkere Anfärbbarkeit der monoblastisch-sudanophilen Granulation können wir im Gegensatz zu BAKALOS und FRAGISKOS (1964) und LEDER (1967) nicht beobachten.

Die Myeloblasten zeigen in den einzelnen Fällen in einem unterschiedlichen Prozentsatz eine sudanophile Granulation. In der Literatur werden die eine sudanophile Granulation enthaltenden Myeloblasten als "reifere" oder "späte" Myeloblasten bezeichnet (SHEEHAN u.a.). In unseren beiden Normalfällen (Fall 1-2) besitzen im Durchschnitt 11% der Myeloblasten diese Granulation. Einen gegenüber der Norm wesentlich höheren Prozentsatz an granulaenthaltenden Myeloblasten sehen wir bei einem Fall mit Leberparenchymschaden (Fall 13) und bei einem Fall mit Infektanämie (Fall 15). In beiden Fällen zeigte das Sternalpunktat eine toxisch-granulierte Granulopoese. Worauf der hohe Prozentsatz bei der infektiösen Hepatitis (Fall 17) zurückzuführen ist, bedarf weiterer Klärung. Das Sternalmark zeigte eine normale Granulopoese.

Unsere Aussagen über die Erythroblasten und über die Lymphozyten decken sich weitgehenst mit denen in der Literatur angegebenen: Die Erythroblasten und die Lymphozyten sind durch Sudanschwarz B nicht anfärbbar

Wir sehen die Plasmazellen wie auch LENNERT (1961) u.a. als sudanophob an, wobei wir die in nur zwei Fällen in 3- und 5 % beobachtete sudanophile Granulation vernachlässigen. MAURI (1963) u.a. können dagegen in allen Plasmazellen Lipide als schwach sudanophile Körnchen darstellen.

Auf die Problematik der Glanzkorn-Auswertung haben wir schon hingewiesen. Die Anfärbbarkeit der Glanzkörner mit der von SHEEHAN und STOREY (1947) vorgeschlagenen Sudanschwarz B-Methode steht heute außer Zweifel (BEISSEL 1969). BEISSEL bezeichnet die Glanzkörner als variabel auftretende Zellbestandteile, die in allen von ihm untersuchten Zellen beobachtet werden konnten. Morphologisch handelt es sich nach seiner Meinung um Mitochondrien, welche Lipide aufgenommen haben. Diese Transformation soll reversibel sein (BOLL 1967). BEISSEL und RIND (1955, 1963) bezeichnen die Glanzkörner als Lipochondrien.
Wir können mit Ausnahme der reifen Erythroblasten und der Erythrozyten in allen Zellen Glanzkörner in den Originalpräparaten nachweisen. Wir sind deshalb mit BEISSEL der Meinung, daß Glanzkörner schon in vivo auftreten. Bei den eosinophilen Zellen haben wir wegen den Zuordnungsschwierigkeiten auf die Angabe der glanzkornhaltigen Zellen verzichtet. In den Zellen der Monozyten-Leukämie sind die Glanzkörner vermehrt. (Fall 19)

Durchschnitt der glanzkornhaltigen Zellen in % in den Originalpräparaten (siehe auch Tabelle 31):

Neutrophile Zellen	3,4 %
Monozyten	6,3 %
Myeloblasten	4,4 %
Erythroblasten	3,2 %
Lymphozyten	5,1 %
Plasmazellen	7,4 %

In der Literatur liegen Vergleichszahlen nur für die Lymphozyten vor. So findet NOELLER (1952) in 25 % der Lymphozyten von Patienten, die an Hepatitis epidemica erkrankt sind, Glanzkörner. Wir stimmen mit RIND (1955, 1963) überein, der nur in 1-5 % der Lymphozyten Glanzkörner findet.

In den von uns untersuchten Fällen mit infektiöser Hepatitis (Fall 17) und mit Leberparenchymschäden (Fall 9-13) sehen wir keine Vermehrung der glanzkornhaltigen Lymphozyten.

Vakuolenhaltige Zellen werden in allen Originalpräparaten bei den untersuchten Zellarten in einem unterschiedlichen Prozentsatz gefunden (siehe Tabelle 32),prozentual am häufigsten in den Plasmazellen. Wir sehen Vakuolen vermehrt in den Zellen der Blutungsanämie (Fall 5),der Panmyelopathie (Fall 7) und der Myeloblasten-Leukämie (Fall 20).Im Fall 5 ist die Chloramphenicol-Behandlung und im Fall 20 die schwere Anämie (Hb=8,1 g%) als Ursache dafür anzusehen.

Da die mit Sudanschwarz B dargestellten Elemente oftmals auch mit der Peroxydasereaktion erfaßt werden (UNDRITZ 1963,u.a.),weil die Peroxydasereaktion zumindest teilweise der Anwesenheit von Fettperoxyden zuzuschreiben ist (STEGNER 1960),sollen unsere Ergebnisse noch mit den in der Literatur angegebenen Peroxydase-Ergebnissen verglichen werden :

Der Peroxydasegehalt ist in den eosinophilen Zellen höher als in den neutrophilen Zellen (HIGASHI 1966, SCHWEIHOFER 1969 u.a.).Die Sudanophilie zeigt nach unseren Untersuchungen eine umgekehrte Relation. Der Peroxydasegehalt nimmt bei den neutrophilen Zellen vom Promyelozyten mit zunehmender Reife der Zellen ab (SCHWEIHOFER),während die Sudanophilie zunimmt. Vergleiche für die Monozyten,Myeloblasten und andere Zellen können wir an Hand unserer Ergebnisse nicht diskutieren.Doch sollen nach BAKALOS und FRAGISKOS (1964) sowohl die Anfärbbarkeit der Monozyten-Granula als auch die Anfärbbarkeit der möglichen leukämischen Parablasten-Granula mit Sudanschwarz B empfindlicher sein als die Peroxydasereaktion.

Mit Sudanschwarz B lassen sich noch Granula anfärben,wenn die Peroxydasereaktion negativ ist und in der panoptischen Färbung keine Granula sichtbar sind.
Einige von SCHWEIHOFER untersuchten Fälle können wir vom Blut- und Sternalmarkbefund mit unseren Fällen vergleichen.So trat eine Peroxydaseverminderung in den neutrophilen Zellen bei einem Fall mit Infektleukozytose und bei allen Zellen bei zwei Fällen mit Eisenmangelanämie und bei einem Fall mit Panmyelopathie auf.Wir können nur die im Fall der Infektleukozytose getroffenen Aussage hinsichtlich der Sudanophilie bestätigen.
Bei Anämien werden alllgemein keine Veränderungen der Sudanophilie bemerkt.

Zusammenfassend ergibt sich,daß unsere Befunde über die Sudanophilie - den Lipidgehalt - der untersuchten Zellen und in Bezug auf die einzelnen Krankheiten in den Originalpräparaten im wesentlichen mit den Angaben in der Literatur übereinstimmen.Nur beim Vergleich mit der Peroxydasereaktion zeigen sich Abweichungen.

b) Kulturausstriche

In der Literatur wird von HERTL und THOMAS (1959) die Sudanschwarz B-Färbung in Knochenmarkzellen in der Kultur beschrieben.Sie kommen zu dem Ergebnis,daß die neutrophilen und eosinophilen Zellen in gleicher Weise und gleichzeitig bei 24 Stunden beginnend und bei 72 Stunden vollständig von einer fortschreitenden Verminderung der Lipide - ausgewertet an der Farbintensität der Granula - betroffen sind.Dabei sollen die eosinophilen Lipidgranula etwas langsamer als die der neutrophilen abblassen.

Wir stimmen mit diesen Ergebnissen insoweit überein, daß die Granula während der Kultivierung schlechter mit Sudanschwarz B angefärbt werden - respektive einen Lipidverlust erleiden. Aber unter unseren Kulturbedingungen bleiben sie noch nach 72 Stunden anfärbbar, in dem einen untersuchten Fall sogar noch nach 120 Stunden. Die Diskrepanz zu HERTL und THOMAS könnte durch die unterschiedlich benutzten Kulturmedien bedingt sein. Lipide werden von den kultivierten Zellen aus dem Medium aufgenommen und Zellipide ans Medium abgegeben, so daß sich der Zellipidgehalt qualitativ und quantitativ ändern kann (GEYER 1967). Auch ist die Rolle der Granulalipide als möglicher Energielieferant noch nicht abgeklärt.

Der Lipidverlust in den neutrophilen Zellen ist in den beobachteten Fällen im Verlauf der Kultivierung ausgehend von den z.T. unterschiedlichen Anfangswerten bei 2 Fällen mit Blutungsanämie (Fall 3-4), bei der sideroachrestischen Anämie (Fall 6), bei einem Fall mit Panmyelopathie (Fall 7), bei 2 Fällen mit Infektanämie (Fall 14 und 16) und bei einem Fall mit Monozyten-Leukämie (Fall 19) annähernd gleichmäßig. Einen nur geringen Lipidverlust erleiden die neutrophilen Zellen der Myeloblasten-Leukämie (Fall 20). Sie zeigen nach 72-stündiger Kultivierung die höchsten Endwerte. Bei der Myeloblasten-Leukämie wird im 72-Stundenpräparat verglichen mit dem 48-Stundenpräparat ein Lipidanstieg bei den Segmentkernigen beobachtet. Da die Segmentkernigen höchstens eine Überlebenszeit von 2 Tagen besitzen (BOLL 1966 u.a.), sind die im 48- und 72-Stundenpräparat gesehenen Segmentkernigen in vitro neu gebildete. Der Lipidanstieg könnte so entweder durch eine gesteigerte Lipidsynthese in einem Teil der leukämischen 48-Stunden-Segmentkernigen, durch einen höheren Lipidgehalt der

erst im 72-Stundenpräparat ausgewerteten leukämischen Segmentkernigen oder als Folge beider möglichen Ursachen bedingt sein.
Bei einem Fall mit Blutungsanämie (Fall 5) wird gleichfalls ein nur geringer Lipidverlust der neutrophilen Zellen gesehen,wobei der niedrige Ausgangswert besonders zu beachten ist.
Der in 3 Fällen (Fall 11,12 und 20) beobachtete Lipidanstieg der Promyelozyten im 24-Stundenpräparat ist erstaunlich.

Im Verlauf der Kultivierung bleibt mit einer Ausnahme (Fall 5) die Granula-Dichte der Neutrophilen,ausgehend von den Anfangswerten,annähernd konstant.Eine Degranulation als mögliche Folge der Kultivierung wird nicht beobachtet.

In den eosinophilen Zellen ist der Lipidverlust bei den verschiedenen Erkrankungen im Verlauf der Kultivierung unterschiedlich und im Durchschnitt etwas größer als bei den Neutrophilen,wobei der geringste Lipidverlust wieder bei der Myeloblasten-Leukämie beobachtet wird.

Die Monozyten zeigen im Verlauf der Kultivierung im Durchschnitt eine leichte Abnahme der granulaenthaltenden Zellen,wobei keine wesentlichen Unterschiede bei den untersuchten Erkrankungen gesehen werden.
Die Granula sind nach Kultivierung mit Sudanschwarz B in hellbraunem Farbton darstellbar.

Die Myeloblasten sind mit einer Ausnahme in der Kultur sudanophob.Die bei der sideroachrestischen Anämie (Fall 6) zu beobachtende Erhöhung der granulaenthaltenden Myeloblasten von 0 im Original,7% nach 24 Stunden, 40% nach 48 Stunden und 45% nach 72 Stunden kann durch die von BOLL und MERSCH (1969) beschriebene beschleunigte Ausreifung der Granulopoese bei der sideroachrestischen Anämie bedingt sein.

Bei den Erythroblasten und den Erythrozyten sehen wir im Verlauf der Kultivierung die schon von HERTL und THOMAS beobachtete schwache diffuse Sudanophilie des Zytoplasmas der polychromatischen Erythroblasten und Erythrozyten zunehmen.

Die Lymphozyten bleiben auch in der Kultur sudanophob.

In den Plasmazellen beobachten wir mit fortschreitender Kultivierung zunehmend sudanophile unregelmäßig begrenzte Strukturen. Es kann sich hier um phagozytiertes sudanpositives Material handeln, da andere Zellen diese Strukturen nicht aufweisen und damit eine Verunreinigung der Präparate ausgeschlossen werden kann.

Der Anteil der glanzkornhaltigen Zellen nimmt in der Kultur, wenn auch nicht immer regelmäßig, bei allen untersuchten Zellen zu. Dies deckt sich mit den von BEISSEL (1969) und HÜBNER (1970) gemachten Beobachtungen. Die gestörte Aerobiose der Mitochondrien in den kultivierten Zellen könnte dafür verantwortlich sein (BEISSEL). Gleichfalls nimmt der Anteil der vakuolenhaltigen Zellen im Verlauf der Kultivierung zu. Damit stimmen wir mit den Beobachtungen von WILDANGER (1970) überein. Besonders häufig werden nach 72-stündiger Kultivierung glanzkorn- und vakuolenhaltige Zellen bei der Myeloblasten-Leukämie und bei der Panmyelopathie gesehen.

VI. Zusammenfassung

Knochenmark von 20 Patienten und Kulturausstriche von 11 Patienten wurden mit Hilfe der Sudanschwarz B-Färbung auf den Lipidgehalt der Zellen untersucht. Der Lipidgehalt der einzelnen Zellarten zeigte sich, wie bekannt, unterschiedlich. Eine Abhängigkeit des Lipidgehaltes der Granulozyten von den verschiedenen Krankheitsbildern wurde gefunden, wie schon in der Literatur angegeben. Beim Vergleich unserer Ergebnisse mit denen der Peroxydasereaktion nach Graham-Knoll zeigten sich große Unterschiede. Weiterhin wurden Angaben über das prozentuale Auftreten von Glanzkörnern und Vakuolen gemacht. Beziehungen zu den verschiedenen Erkrankungen konnten festgestellt werden.

In der Koagulum-Kultur nimmt der Lipidgehalt der neutrophilen weniger als der der eosinophilen signifikant ab, während bei den polychromatischen und reifen Erythroblasten und bei den Erythrozyten eine leichte Sudanophilie des Zytoplasmas auftrat. Glanzkörner und Vakuolen wurden mit zunehmender Kultivierungszeit in einem weit höheren Anteil der Zellen gesehen.

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie
EURATOM-GSF, Nr. 031-64-1 BIAD
Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt.

VII. Literaturverzeichnis

1. Ackermann, G.A., Knouff, R.A. und Hoster, H.A.: Cytochemistry and morphology of neoplastic and non neoplastic human lymph node cells with special reference to Hodgkin's disease J.nat.Cancer Inst. 12,465 (1951)

2. Astaldi, G. und Strosselli, E.: Zytochemie der Leukozytengranulation In: Merker (Herausgeber), Zytochemie und Histochemie in der Haematologie, Freiburger Symposium 9, 467 (1962), Springer-Verlag 1963

3. Auer, R. und Castens, M.: Die Aktivität der Fettsäuresynthetase in menschlichen Leukozyten und Thrombozyten bei Gesunden, bei Leukosen und bei Lymphogranulomatosen (M. Hodgkin) Klin.Wschr. 45 J., 546 (1967)

4. Bacsich, P.: On the staining of lipoid granules in leukozytes J.Anat. 70, 267 (1935)

5. Bakalos, D. und Fragiskos, J.: Sudanophilia of the monozytes and its significance in the concept of akute leukemia Blut, 10,190 (1964)

6. Beissel, A.: Optische und histochemische Untersuchungen an Glanzkörnern in kultivierten Knochenmarkzellen und Phytohaemaglutinin-stimulierten Lymphozyten Inaugural-Dissertation, 1969, Med. Fak. FU Berlin

7. Bessis, M.: Traitède cytologie sanguine Masson et Cie, Paris 1954

8. Bloom, M.L. und Wislocki, G.B.: The localisation of lipides in human blood and bone marrow cells Blood 5,79 (1950)

9. Boll, I.: Granulopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen
Springer-Verlag, Heidelberg (1966)

10. Boll, I.: Morphologische Veränderungen einer Plasmocytomzelle während 4 Tagen in vitro
Blut 14,351 (1967)

11. Boll, I. und Mersch, G.: Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Granulopoese in vitro
Blut, 19,257 (1969)

12. Clara, M.: Methoden der Lipidhistochemie
In: Handbuch der Histochemie 5,1,101
Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart 1965

13. Cohn, Z.A. und Hirsch, J.G.: The isolation and properties of spezific cytoplasmic granules of rabbit polymorphonuclear leukozytes
J. exp. Med. 112,983 (1960)

14. Cohn, Z.A. und Hirsch, J.G.: Degranulation of polymorphonuclear leukozytes following phagocytosis of microorganism
J. exp. Med. 112,1005 (1960)

15. Eggert, J.: Lehrbuch der physikalischen Chemie 8. Auflage, S. Hirzel-Verlag, Stuttgart 1960

16. Geyer, R.P.: Uptake and retention of fatty acids by tissue culture cells
In: Lipid metabolism in tissue culture cells ed. by Rothblat, G.H. and Kritchevsky
The wistar institute symposium monograph 6 (1967)

17. Goldmann, J.: Beitrag zur Färbung der Lipoidgranula der Leukozyten nebst Betrachtung über die Widerstandsfähigkeit der Lipoid- und Oxydasefärbung
Zentralbl. f. Bact. etc. 1. Abt. Originale
Bd. 112,445 (1929)

18. Hayhoe, F.G.J.: The cytochemical demonstration of lipides in the blood and bone marrow cells J. Path. Bact. 65,413 (1953)

19. Hayhoe, F.G.J., Quaglino,D. und Doll, R.: The cytologie and cytochemistry of acute leukemias, a study of 140 cases London: Her majesty's stationary office 1964

20. Harms, H.: Handbuch der Farbstoffe für die Mikroskopie Staufen-Verlag, Kamp-Linfort 1965

21. Hertl, M.: Zytochemische Untersuchungen an Knochenmarkzellen Folia haemat. N.F. 3,296 (1959)

22. Hertl, M.: Zytochemie der Zellen der akuten Leukosen Theoretische und klinische Med. in Einzeldarstellung Bd. 30 Dr. A. Hüthig-Verlag, Heidelberg 1966

23. Hertl, M. und Thomas, K.: Zytochemische Untersuchungen an Knochenmarkzellen in der Kultur Folia haemat. N.F. 3,351 (1959)

24. Heckner, F.: Färbechemie, Lipoide In: Handbuch der gesamten Haematologie 2. Bd., 2. Teil, 2. Halbbd., 88 Urban & Schwarzenberg-Verlag, München-Berlin 1960

25. Heckner, F.: Leitfaden der Blutzellkunde Urban & Schwarzenberg-Verlag, München-Berlin 1965

26. Hermansky, F.: Sudanophilia and lipids in the blood and bone marrow cells Histochemie 5,303 (1965)

27. Higashi, O.: The shortest peroxydase stain time mean cellular peroxydase content of blood leukozytes Tohoku J. exp. Med. 89,1 (1966)

28. Hübner, P.: Phasenkontrastoptische Untersuchungen über die Entstehung von Glanzkörnern in haematopoetischen Zellen Inaugural-Dissetation, 1970, Med. Fak. FU Berlin

29. Jochims, J.: Mitwirkung der polymorphkernigen Leukozyten beim Transport und Stoffwechsel der Fette
Klin.Wschr. 37 (1959),1196

30. Kahn, P.: Zur Differenzierung akuter Leukosen
Wiener Zschr. f. inn. Med. 49,187 (1968)

31. Lambers, K.: Cytochemische Untersuchungen an Blutzellen und ihre Bedeutung für die Klinik der Blutkrankheiten
Internist I, 269 (1960)

32. Lambers, K.: Zur Zytochemie der Blutzellen
Dtsch. Med. Wschr. 87,1913 (1962)

33. Lambers, K. und Eggstein, M.: Der Fettgehalt der Granulozyten und ihrer Vorstufen unter normalen und pathologischen Bedingungen
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 65,191 (1959)

34. Leder, L.D.: Der Blutmonozyt
Exp. Med., Path. und Klinik. Bd. 23 Springer-Verlag 1967, Berlin

35. Lennert, K. und Wenzel, E.: Z.wiss. Mikroskopie 61, 20(1952)

36. Lillie, R.D. und Burtner, H.J.: Stable sudanophilia of human neutrophil leukozytes in relation to perxidase and oxidase
J. Histochem. Cytochem. 1,8 (1953)

37. Mauri, C.: Über Lipide und ihre Bedeutung in den Zellen der blutbildenden Systeme
In: Merker (Herausgeber) Zytochemie und Histochemie in der Haematologie, Freiburger Symposiums 9, 1962, 433
Springer-Verlag, Berlin 1963

38. Meier, W.: Untersuchungen zur Theorie der Fettfärbung
Z.wiss. Mikroskopie 64,193 (1959/60)

39. Merker, H.: Cytochemie der Blutzellen
In: Handbuch der inn. Med.
2. Bd., 1. Teil, 200, Lipide
Springer-Verlag, Berlin 1968

40. Müller, D.: Zur Morphologie und Differenzierung leukämischer Zellen
Klin.Wschr. 45, 192 (1967)

41. Noeller, H.G.: Phasenkontrastmikroskopische Beobachtungen an Blutzellen bei Hepatitis epidemica
Ärztl. Forsch. 6,185 (1952)

42. Otto, H.: Über die Ätiologie und Stoffwechsel der Leukosen
Zschr. ges. inn. Med. 16,873 (1961)

43. Pearse, A.G.: Histochemistry
Third Ed., Vol. 1,414 (1968)
J.A. Churchill Ltd.

44. Pezold, F.A.: Lipide und Lipoproteide im Blutplasma
Springer-Verlag, Berlin 1961

45. Rind, H.: Histochemie der Lymphozytenglanzkörner
Klin. Wschr. 33, 731 (1955)

46. Rind, H.: Angewandte Phasenkontrasthaematologie
Habilationsschrift Bd. 1,
Gießen 1963

47. Rind, H. und Otto, F.M.G.: Die Phakopräparatfärbung
Folia haemat., Lpz. 72,113 (1954)

48. Rohr, K.: Das menschliche Knochenmark
3. Auflage, Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1960

49. Schott, H.J.: Zur Frage der histochemischen Fettspezifität des Sudanschwarz B und zur Methode der Auftrennung seiner Fraktionen
Z. f. Zellforsch. u. mikrosk. Anat., Abt. Histochemie 3,467 (1964)

50. Schwandt, P., Birk, J. und Ehrhardt, H.: Lipide in isolierten menschlichen Leukozyten
Klin. Wschr. 45, 1008 (1967)

51. Schwandt, P., Birk, J. und Ehrhardt, H.: Leukozytenlipide bei Haemoblastosen
Klin. Wschr. 46,687 (1968)

52. Schweihofer, E.: Die Peroxydasereaktion in der Knochenmarkkultur
Inaugural-Dissertation 1969, Med. Fak. FU Berlin

53. Sehrt, E.: Die histologische Darstellung der Lipoide der weißen Blutzellen und Beziehung der Lipoide zur Oxydasereaktion
Münsch. med. Wschr. 74,139 (1927)

54. Sheehan, H.L.: The staining of leukozyte granules by sudan black B
J. of Path. Bact. 49,580 (1939)

55. Sheehan, H.L. und Storey, G.W.: An improved method of staining leucozyte granules with sudan black B
J. of Path. Bact. 59,336 (1947)

56. Stegner, H.E.: Topochemische Untersuchungen zur Differenzierung oxydativer Aktivitäten in Gewebsleukozyten der Rattenhaut
Acta histochem., 10,122 (1960)

57. Storti, E. und Perugini, S.: Ricerche istochimiche sui lipidi delle cellule del sangue e degli organi empoietici dell'uomo normale
Studia Ghisleriana, Studi medici bio.
Serie 3, Vol. 1,313 (1949)

58. Storti, E. und Perugini, S.: Cytochemical researches on the lipids of the hematic cells with particular attention to those of acute leukosis
Acta haemat., Vol. 5,321 (1951)

59. Storti, E. und Mauri, C.: Die chronischen Myelosen
In: Handbuch der ges. Haematologie 4. Bd., 2. Teil, 157
Urban & Schwarzenberg, Berlin 1963

60. Tobiasch, V.: Über die Anwendung cytochemischer Methoden in der Haematologie
Folia haemat. 79,133 (1962)

61. Undritz, E.: Die Peroxydasereaktion und ihre praktische Bedeutung
In: Merker (Herausgeber) Zytochemie und Histochemie in der Haematologie
Freiburger Symposium 9,1962
Springer-Verlag, Berlin 1963

62. Wachstein, M.: Histochemistry of leukozytes
Ann. of the New York Academy of Science 59,1052 (1955)

63. Wildanger, I.: Die Veränderung der Zellmorphologie und der Proliferationskinetik des Knochenmarks unter 2 o/oo Alkoholeinwirkung in vitro
Inaugural-Dissertation 1970, Med. Fak. FU Berlin

64. Wolman, M.: Lipides
In: Handbuch der Histochemie 5,2
Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart 1964

Literaturangaben zur statistischen Auswertung:

Reich, Th.: Idee und Praxis der medizinischen Statistik
H. Huber-Verlag, Bern und Stuttgart 1964

Documenta Geigy: Wissenschaftliche Tabellen 1960

L e b e n s l a u f

Am 7.8.1943 wurde ich, Detlef Fiebelkorn, als Sohn des Dr.med. Dietrich Fiebelkorn und seiner Ehefrau Charlotte, geb. Ruhbaum, in Berlin-Schöneberg geboren.

1949 - 1955 Grundschulbesuch erst in Ost-Berlin, dann in West-Berlin

1955 - 1958 Besuch der Rheingau-Schule, einer Oberschule wissenschaftlichen Zweiges, in Berlin-Wilmersdorf

1958 - 1964 Besuch der Sophie-Scholl-Schule, einer Oberschule wissenschaftlichen Zweiges, in Berlin-Schöneberg und Schulabschluß mit Bestehen der Reifeprüfung im Februar 1964

Frühjahr 1964 Beginn des Medizin-Studiums an der Freien Universität Berlin

Frühjahr 1965 Bestehen des Vorphysikums

Frühjahr 1967 Bestehen der ärztlichen Vorprüfung

20.8.1970 Beendigung des Studiums mit Bestehen des Medizinischen Staatsexamens an der Freien Universität Berlin

Im Rahmen meiner weiteren medizinischen Ausbildung habe ich 3 Monate in der Städt. Frauenklinik Berlin-Neukölln, 4 Monate auf der I. Inneren Abt. des Städt. Krankenhauses Berlin-Moabit und 5 Monate auf der chirurgischen Abt. des Krankenhauses Rheiderland in Weener/Ems gearbeitet. Meine Approbation erhielt ich am 15.12.1971. Zur Zeit befinde ich mich in der gynäkologischen Facharztausbildung.

B. Ladewig · Dissertationsdruck · 1 Berlin 12 · Pestalozzistr. 105 · Tel. 318885